

**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**GRADO EN BIOLOGÍA**  
**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**CURSO ACADÉMICO 2018-2019**

TÍTULO:

**SINERGIAS Y COMPROMISOS ENTRE SERVICIOS  
ECOSISTÉMICOS EN RESPUESTA A LA FRAGMENTACIÓN DEL  
HÁBITAT**

AUTOR:

**FRANCISCO JOSÉ ROMERO FORNÉS**

## **Agradecimientos**

En primer lugar agradecer a Pablo García Muñío, Rocío Montes Moya, Adrián Martínez Tormo y a Delfina Martínez por su ayuda en las tareas relacionadas con el campo. Prosigo, recordando a Jordi Acosta, José Carlos Cristóbal y Leticia Alonso por su labor en la identificación de plantas. A Francisco Barrero, Silvia Ivars y José Huesca por su apoyo en tareas de laboratorio. También a Carlos Esteve y a Julia Cerveró por proporcionar los datos para calcular el valor del forraje. Dar las gracias a Aymen Moghli por su gran ayuda de continuo en el laboratorio y en su constante predisposición. A Estrella Pastor por su ayuda tanto en tareas relacionadas con el campo, el laboratorio, su paciencia en enseñarme todo lo importante para la realización de este trabajo y su eterna sonrisa. Agradecerle a mi círculo más cercano de amistades por darme su apoyo y constante preocupación por el desarrollo del trabajo, con una especial mención a Iván y Adán a quienes más que unos amigos considero unos hermanos. A mi compañera Alba Garrapiso por el constante apoyo que nos hemos brindado el uno al otro y por compartir muchos buenos momentos que seguro que a ninguno de los dos se nos van a olvidar. Una especial mención para mi tutor Santiago Soliveres Codina, quien desde el primer momento me ha dado toda su atención y su apoyo, que ha sacado tiempo para atenderme cuando no lo ha tenido y que me ha enseñado de manera ejemplar como asentar las bases de este trabajo. También he de recalcar de mi tutor el apoyo económico por parte de su proyecto RyC-2016-20604. A mi novia Mélani, que desde el día en el que la conocí me ha cambiado, me ha hecho mejor persona y no podré agradecerle nunca todo lo que ha hecho por mí, sin duda uno de los pilares de mi vida. A mi padre, por siempre recordarme que haga lo que me guste, que luche por mis sueños y que puedo conseguir todo lo que me proponga. Por último, hacer una mención especial a la persona que me dio la vida, mi madre, Rosa Fornés, que aunque por desgracia a día de hoy no se encuentre entre nosotros sigue estando cada día en mis pensamientos y tendrá siempre el lugar más especial en mi corazón.

## Resumen

Es inevitable admitir que a día de hoy, el ser humano tiene un papel importante en la modificación de los ecosistemas. Todas estas acciones conllevan por ejemplo la fragmentación del hábitat, que finalmente acaba repercutiendo tanto en la biodiversidad, en las funciones del ecosistema y en los servicios ecosistémicos (de aprovisionamiento, regulación y culturales). Por todo esto es importante lograr buscar el equilibrio entre lo que resulte beneficioso para el ecosistema y para el ser humano. Para ello, poco a poco se está conociendo más respecto al funcionamiento de los ecosistemas que en un futuro permitirán un mejor manejo de los mismos. En la ejecución de este manejo toman gran importancia las sinergias, cuando se mejoran varios servicios ecosistémicos por la compensación entre ellos, y los compromisos, en los que se mejora la prestación de un servicio a cambio de reducir la de otro. Sin embargo, desconocemos como el manejo del ecosistema por parte del ser humano afecta al grado en que distintas funciones presentan sinergias o compromisos. Para esta tarea, se realizó este estudio ubicado en el Parque Natural de la Font Roja. En él se tomaron datos para medir las funciones más relevantes (C orgánico,  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa, fósforo, biomasa, forraje, nutrientes, infiltración y erosión) de 43 parches que contenían la especie *Quercus ilex* y 5 de ellos en los que esta especie no existía. En estos 43 parches donde había presencia de esta especie, se tomaron los valores del área del mismo (como una medida del tamaño del hábitat) y su área foliar (como una medida de su calidad) para comprobar si estos factores juntos o por separado podían tener relevancia en la alteración de los servicios ecosistémicos. Además se calculó la multifuncionalidad del ecosistema para conocer el acoplamiento entre los diferentes servicios ecosistémicos. Como resultado se obtuvo que las funciones alcanzaban su máximo valor en parches de tamaño medio, entre unos 100 y 125 m<sup>2</sup>, siendo en general el tamaño del hábitat más importante que su calidad. Entre las funciones medidas existen más sinergias que compromisos, y los compromisos se encuentran ligados a procesos naturales (no derivados de las diferencias en el tamaño o calidad del hábitat). Además la multifuncionalidad resultó ser bastante alta. Para el futuro se insta a continuar con los estudios que nos den una visión más precisa de estas sinergias y compromisos entre servicios ecosistémicos.

**Palabras clave:** Ciclos de nutrientes, vegetación, fragmentación, multifuncionalidad, heterogeneidad, bosque mediterráneo.

## **Abstract**

It is inevitable to admit that today, the human being has an important role in the modification of ecosystems. All these actions involve, for example, the fragmentation of the habitat, which ultimately ends up affecting both biodiversity, ecosystem functions and ecosystem services (provisioning, regulating and cultural). For all this, it is important to achieve a balance between what is beneficial for the ecosystem and for the human being. For this, little by little, more is being known about the functioning of ecosystems that in the future will permit a better management of them. In the execution of this management synergies take great importance, when several ecosystem services are improved by the compensation between them, and the tradeoffs, in which the provision of one service is improved in exchange for reducing that of another. However, we do not know how the management of the ecosystem by the human being affects the degree to which different functions present synergies or tradeoffs. For this task, this study was carried out located in the Font Roja Natural Park. In it, data were taken to measure the most relevant functions (organic C,  $\beta$ -glucosidase, phosphatase, phosphorus, biomass, forage, nutrients, infiltration and erosion) of 43 patches containing the species *Quercus ilex* and 5 of them in which species did not exist. In these 43 patches where there was presence of this species, the values of the area of the same (as a measure of the size of the habitat) and its leaf area (as a measure of its quality) were taken to check whether these factors together or separately have relevance in the alteration of ecosystem services. In addition, the multifunctionality of the ecosystem was calculated to know the coupling between the different ecosystem services. As a result, it was obtained that the functions reached their maximum value in patches of medium size, between about 100 and 125 m<sup>2</sup>, being in general the size of the habitat more important than its quality. Among the functions measured, there are more synergies than commitments, and the commitments are linked to natural processes (not derived from the differences in the size or quality of the habitat). In addition, the multifunctionality turned out to be quite high. For the future it is urged to continue with studies that give us a more precise vision of these synergies and tradeoffs between ecosystem services.

**Key words:** Nutrient cycling, vegetation, fragmentation, multifunctionality, heterogeneity, Mediterranean forest.

# Índice

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
3. Materiales y métodos.....	4
3.1 Descripción de la zona.....	4
3.2 Explicación del estudio.....	5
3.3 Análisis de suelo.....	6
3.4 Análisis estadístico.....	9
3.5 Cronograma.....	11
4. Resultados.....	11
5. Discusión.....	20
6. Conclusión.....	25
7. Bibliografía.....	27
8. Anexos.....	31
Anexo 1.....	31
Anexo 2.....	41



# **1.Introducción**

Los servicios ecosistémicos se definen como recursos o procesos de los ecosistemas que provocan un beneficio a los seres humanos. Éstos se pueden clasificar en tres grandes grupos: aprovisionamiento (comida, madera, material genético, etc), regulación (control de la erosión, regulación del clima, fijación y secuestro de carbono, etc) y culturales (ecoturismo, valores de pertenencia, estética, etc) (La Notte *et al.*, 2017). El impacto que el ser humano tiene sobre los sistemas biológicos altera la capacidad de los ecosistemas para suministrar estos servicios, normalmente maximizando aquellos relacionados con la producción agrícola o madera a costa del resto (Naeem *et al.*, 2012 int). Por tanto, los servicios relacionados con el aprovisionamiento entran en conflicto con los de regulación y los culturales (Millenium Ecosystem Assessment 2005; Raudsepp-Hearne *et al.*, 2010).

Estas interacciones entre los servicios ecosistémicos se producen cuando varios de ellos responden al mismo impulso de cambio o cuando las interacciones entre ellos causan cambios en un servicio ecosistémico para alterar el aprovisionamiento de otro. En respuesta a esto, por un lado están los compromisos, en los que se mejora la prestación de un servicio a cambio de reducir la de otro (por ejemplo, el promover el servicio de la producción de madera reducirá el secuestro de carbono). Por el otro, surgen las sinergias, cuando se mejoran varios servicios ecosistémicos por la compensación entre ellos (por ejemplo, un aumento de la belleza paisajística promoverá el sentimiento de pertenencia por parte de la gente). Tanto los compromisos como las sinergias se deben de saber gestionar para así producir el menor coste al ser humano y mantener la multifuncionalidad del sistema. Es decir, la provisión de los múltiples servicios ecosistémicos que se necesitan, a altos niveles y de forma simultánea. Además, se deben de saber gestionar porque hay algunos que al depender exclusivamente del factor ambiental son sinergias y compromisos inevitables. Por ejemplo, una alta tasa de los descomponedores del suelo libera nutrientes, pero inevitablemente van a reducir el contenido de carbono en el suelo (Felipe-Lucia *et al.*, 2018). En la actualidad, uno de los grandes retos que se afrontan en el estudio de las sinergias y los compromisos en los ecosistemas es la falta de herramientas para evaluarlos de una manera correcta, así como conocer los factores ambientales, de manejo o climáticos, que los determinan (Spake *et al.*, 2017).

Para conseguir una mayor comprensión de los factores que determinan las sinergias y los compromisos entre servicios ecosistémicos, uno de los factores que toma un papel relevante al

respecto es la fragmentación del hábitat. La fragmentación se debe principalmente a la alteración del ser humano de la cubierta terrestre (Foley, 2005). Esta alteración viene dada por factores antrópicos como por ejemplo la expansión de la agricultura o la explotación del sector de la construcción. Una vez se produce esta fragmentación, se ha visto que en algunos estudios la presencia de parcelas conectadas mediante corredores, aumenta la presencia de animales y el flujo genético (Tewksbury et al., 2002) Por ello, la fragmentación repercute sobre la biodiversidad y sobre las funciones de los ecosistemas (Liu et al., 2018). Cuando existe pérdida de biodiversidad como consecuencia de la fragmentación del hábitat, se pueden producir alteraciones entre las sinergias y los compromisos entre servicios. Pero no se conoce en profundidad como los diferentes patrones de fragmentación dependientes de la distancia afectan a estos servicios (Mitchell *et al.*, 2015). En este tipo de estudios uno de los mayores problemas que se ha localizado es que los estudios se han centrado en exceso en los servicios ecosistémicos de aprovisionamiento y de regulación y en concreto la polinización, además que se le ha dado muy poca importancia a la interacción entre varios servicios (Mitchell *et al.*, 2013).

Otro factor por el que se pueden ver afectados los servicios ecosistémicos es el área foliar, es decir, la superficie de hoja que hay por superficie de terreno. En este caso, el área foliar determina la calidad del hábitat. La existencia de una mayor cantidad de área foliar, puede ser importante en relación a servicios de regulación (por ejemplo con el clima y fijación de carbono), servicios de aprovisionamiento (por ejemplo la obtención de madera) y culturales (como por ejemplo pérdida de belleza paisajística). Por todo esto, resulta interesante tenerla en cuenta para evaluar la provisión de funciones y servicios ecosistémicos, así como el grado de sinergias y compromisos entre ellos.

## **Objetivos**

- ¿Cómo afecta la fragmentación del hábitat, su calidad y la interacción entre ellas a cada una de las funciones?

-¿Cómo las sinergias y los compromisos entre los servicios ecosistémicos vienen afectados por la fragmentación del hábitat, su calidad y la interacción entre ellas?

-¿Cómo afecta la fragmentación del hábitat y su calidad a la multifuncionalidad del ecosistema?



Respecto al primer objetivo, es de esperar que tanto la fragmentación del hábitat como su calidad tengan importantes repercusiones sobre las funciones del ecosistema. Esto va a crear una serie de compromisos y de sinergias entre los servicios en las que la fragmentación y el área foliar pueden tener también un papel crucial. Por último, se espera poder gestionar estas sinergias y estos compromisos para tener un sistema más adecuado donde los valores de multifuncionalidad sean lo más elevados posible.

## **2. Antecedentes**

El estudio entre las sinergias y los compromisos entre servicios ecosistémicos consta de gran relevancia actualmente en el campo de la ecología. Poco a poco se han ido logrando más avances pero todavía queda un gran camino por recorrer. En primer lugar, se han logrado conocer parte del funcionamiento entre estas sinergias y estos compromisos, separándolas entre dos grupos. Las evitables mediante el manejo del ecosistema y las no evitables que forman parte de causas ambientales y son más difíciles de conocer sus detalles (Felipe-Lucia *et al.*, 2018).

Otra de las labores que se ha venido tratando en los últimos tiempos es la importancia de la que constan estas sinergias y compromisos para los servicios culturales. Ya que se ha comentado (Raudsepp-Hearne *et al.*, 2010) que en este manejo de los ecosistemas se centra en los servicios de aprovisionamiento y de regulación y por ello es de gran importancia adaptar futuros estudios a la convergencia de todos los tipos de servicios ecosistémicos. Si esta complementación se alcanza de la manera adecuada, se alcanzará la multifuncionalidad en el ecosistema, que es el objetivo de muchos gestores forestales (Giling *et al.*, 2018).

Uno de los retos que también se ha demostrado que se debe de buscar en futuros estudios es adaptar cada uno de los servicios a la escala espacial adecuada, todo ello para lograr tener una mayor comprensión de estas sinergias y estos compromisos entre servicios ecosistémicos (Manning *et al.*, 2018).

### **3. Materiales y métodos**

#### **3.1 Descripción de la zona**

La zona de estudio se encuentra en la Font Roja, se trata de un Parque Natural ubicado en la provincia de Alicante, más concretamente entre los términos municipales de Ibi y Alcoy. El clima característico de la Font Roja es el mesomediterráneo seco con una temperatura media de 11°C y una precipitación media anual de 400 mm (Visor Cartogràfic de la Generalitat). A partir del Menejador (pico más alto, situado a 1.356 msnm) se divide en dos vertientes, una vertiente norte o de umbría en la que predominan los vientos húmedos y un clima más continental y la vertiente sur o de solana en la que existe un clima más seco con escasas precipitaciones.

Respecto a las condiciones edáficas, son en su mayoría suelos calcáreos pertenecientes al Terciario. Aunque también existen zonas con yesos mezclados con arcillas que debido a ellas se conoce la zona como la Font Roja (Parcs Naturals de la Generalitat Valenciana).

La zona se engloba con una vegetación de carrascal sublitoral (Gil et al., 2000). Dentro de los diferentes tipos de vegetación presentes en el parque están el bosque de caducifolios con especies como el quejigo (*Quercus faginea*), el fresno (*Fraxinus ornus*) y el arce (*Acer opalus ssp. granatense*), el encinar (*Quercus ilex*) se complementa con una zona de matorral que se encuentra en la solana con especies como *Ulex parviflorus*, *Juniperus oxycedrus* y *Thymus vulgaris* entre otras.



**Figura 1.** Imagen aérea de la Font Roja. El contorno marcado en azul corresponde a la zona de estudio (Visor Cartogràfic de la Generalitat).

### **3.2 Explicación del estudio**

Como se ha explicado anteriormente, el estudio se ubica en la Font Roja, más concretamente en una parte en la que existen parches de encinas (*Quercus ilex*) dispersos en una matriz arbustiva. El área de la parcela seleccionada para la realización del estudio es de unas 10,5 ha. En la zona de estudio, se tomaron 48 parches. Para medir el área de cada uno de estos parches se midió el área de la elipse que forma la copa de la encina que lo contiene. Los tamaños variaron entre los 0 y los 254 m<sup>2</sup>, ya que para este estudio interesa tener en cuenta evaluar el efecto de la fragmentación del hábitat mediante la relación entre servicios ecosistémicos y el tamaño del parche. De estos 48 parches, 5 pertenecen a zonas de claros, cuyo valor de área es 0 ya que no contienen ninguna encina. La elección de la inclusión de estos claros fue para evaluar la diferencia entre un parche con y sin la presencia de encina.

Respecto a los datos que se tomaron en los parches, los 43 que contenían encina, se obtuvo el valor del área como se ha descrito anteriormente y además el índice de área foliar mediante el empleo de medidor de área foliar basado en la medida de luz que llega bajo el dosel con un objetivo ojo de pez. El área foliar se mide en m<sup>2</sup>/ m<sup>2</sup> y se trata de la superficie de hoja que existe por unidad de superficie de dosel y se tomó como una medida de la calidad del parche, independiente de su tamaño. Se midió para tener en cuenta si la variación en la calidad del parche repercute en los servicios ecosistémicos. Para finalizar con la toma de datos a nivel de parche, en los que existía una encina se comprobó si estaba sana o afectada respecto al proceso de la seca. La seca se trata de una enfermedad producida a causa de la unión de diversos factores climáticos, biológicos, edáficos y humanos (Moya, 2016). Esta enfermedad como consecuencia produce defoliación y marchitamiento en las hojas de la encina, una vez que sufre una seca puede recuperar parte de su vigorosidad pero no recupera totalmente su estado previo.

También se ha de mencionar que cada uno de estos parches se dividió en 4 cuadrados de 1 m<sup>2</sup> cada uno de ellos. Para la selección de estos cuadrados, el primero de ellos se realizaba al azar y los otros 3 se seleccionaban en base a que tuvieran diferente número de especies entre ellos para así obtener una importante representación de las diferentes posibilidades que ofrece el "hábitat". Así que en cada uno de estos 4 cuadrados se tomaron datos de la biomasa biomasa para conocer la producción que tiene el sistema y poder relacionarla con los servicios ecosistémicos. La biomasa se midió cortando toda la materia vegetal de cada parche, se secó en la estufa a 80 °C durante 48 horas y a continuación se pesó. También se hizo uso del método Landscape Functional Analysis (Tongway and Hindley, 2004). Este método se basó en

la evaluación de diez aspectos relacionados con la erosión, la incorporación de hojarasca al sistema y la vegetación presente. Mediante el empleo del LFA se pudo conocer la tasa de infiltración del agua, la tasa de reciclado de nutrientes y la tasa de erosión, funciones clave para la comprensión del funcionamiento del ecosistema. Por último se cuantificó el forraje, para ello en cada parche se anotaba el porcentaje de cobertura de cada especie. Seguidamente se procedió al cálculo del valor forrajero con la ayuda del siguiente documento (Esteve y Cerveró, 2018). El forraje sirvió para cuantificar lo apetecibles que resultan esas especies vegetales a los ungulados. Todos estos datos fueron tomados en el campo.

Además en el campo se recogieron de cada uno de estos 4 cuadrados muestras de suelo de aproximadamente los primeros 7,5 cm, ya que es la zona que mayor actividad biológica presenta. Una vez que se comenzó este Trabajo de Fin de Grado se recogieron estas muestras que se habían almacenado en el laboratorio y se obtuvieron los valores de pH, conductividad, carbono orgánico, fósforo asimilable y actividades enzimáticas de la fosfatasa y la  $\beta$ -glucosidasa (ver “Análisis de suelos” abajo). La selección de la toma de datos de 4 cuadrados en cada uno de los parches se realizó para maximizar el rango de variación de los datos.

Por último, las funciones se separaron por un lado en tasas (enzimas fosfatasa y  $\beta$ -glucosidasa, nutrientes, infiltración y erosión) y por el otro almacenes (carbono orgánico, fósforo, biomasa y forraje). (Definición de tasas y almacenes en el apartado 3.3). Esta separación se realizó para separar estos procesos por sus distintas velocidades de respuesta (tasas más rápidas que almacenes) y así poder comprenderlos mejor.

### **3.3 Análisis de suelos**

A continuación se va a realizar una breve explicación de los diferentes tipos de análisis de suelos existentes y las funciones que se asocian a la cuantificación de cada uno de ellos.

**Tabla 1.** Diferentes tipos de análisis de suelos.

<b>Tipos</b>	<b>Básico</b>	<b>Stocks</b>	<b>Tasas</b>
<b>Ejemplos</b>	pH, conductividad y textura.	Carbono orgánico y fósforo asimilable.	Fosfatasa y $\beta$ -glucosidasa

Dentro de los tipos de análisis de suelos, los básicos informan de aspectos importantes dentro del ecosistema, aunque no son funciones propiamente dichas. Los almacenes indican los reservorios de nutrientes en el suelo, que pueden ser empleados por los microorganismos o los distintos seres vivos que se benefician de ellos para llevar a cabo diferentes procesos.

Estos se miden empleando extracciones y métodos de colorimetría o absorbancia. Por último, están las tasas, que se miden con la transformación de un sustrato determinado. Sus unidades son la cantidad que se ha transformado por unidad de tiempo y gramo de suelo. También se miden mediante procesos de absorbancia o de colorimetría.

A continuación, se van a detallar cada uno de los análisis del suelo que se realizaron.

#### **a) Tamizado de los suelos**

Este paso se realizó para poder trabajar de la manera adecuada con las muestras de suelo previamente recogidas en el campo. Para ello, se procedió a eliminar los restos vegetales, las piedras y la grava con un tamaño mayor a los 2 mm. Con ello se obtiene la fracción menor a 2 mm (biológicamente activa) del suelo. (Anexo 1).

#### **b) Humedad del suelo**

La humedad es una de las variables más importantes de los suelos, determina su grado de compactación y es fundamental en procesos como la respiración del suelo (Keesstra *et al.*, 2016). El cálculo de la humedad resulta importante ya que se utiliza como factor de corrección para realizar los análisis se deben calcular mediante el peso seco. Para ello, se llevó a cabo el método gravimétrico (Anexo 1).

#### **c) Medida de pH y conductividad**

La medida de estas dos variables nos permite obtener un mayor rango de información sobre el tipo de suelo en el que estamos trabajando, la cantidad de sales presentes en él y con ello el tipo de vegetales y de microorganismos que van a ser más propensos a crecer y a desarrollarse en estos suelos. Además juegan un papel muy importante en la capacidad de intercambio catiónico, que va a determinar qué nutrientes se van a encontrar más disponibles (Anexo 1).

#### **d) Textura del suelo**

Mediante la realización del test de (Tongway and Hindley, 2004) se pretendió determinar la textura del suelo. Esta determinación se lleva a cabo para conocer qué tipo de suelo era el que

se encontraba presente en la zona de estudio y saber qué porcentaje de arena, limo y arcillas tiene. La textura se relaciona con la capacidad de infiltración que tiene el agua en el suelo y qué porcentaje de agua puede acumular (Anexo 1).

#### **e) Medida del carbono orgánico**

El carbono orgánico resulta del balance entre la incorporación de material fresco al suelo y del CO<sub>2</sub> emitido a la atmósfera como parte los procesos de respiración. Se realizó esta medida ya que el carbono orgánico resulta de gran importancia respecto a la variación del pH, estabilidad en el suelo para la formación de agregados y relación con la CIC que está ligado a la toma de nutrientes (Martínez *et al.*, 2008). Todo ello son variables estrechamente relacionadas con el funcionamiento del ecosistema.

Para su realización se llevó a cabo mediante una variación del protocolo Walkley-Black (Anexo 1).

#### **f) Medida fósforo**

Mediante el empleo de una variación del método de Olsen, se procedió a determinar el contenido de fósforo asimilable en el suelo. El fósforo del extracto se midió por colorimetría mediante el empleo del azul de molibdeno usando ácido ascórbico como reductor. Este método se puede utilizar en cualquier tipo de suelos, pero los mejores resultados se obtienen en suelos con pH básico (como los de este estudio). El fósforo se encuentra en varias formas en el suelo, la menor de ellas es la asimilable, de la que las plantas pueden hacer uso directamente, por ello es importante conocer de este elemento en el suelo (Anexo 1).

#### **g) Medida de la actividad de la enzima $\beta$ -glucosidasa**

En este caso, se va a detallar el procedimiento llevado a cabo para medir la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa en las muestras de suelo recogidas. Esta es una hidrolasa que interviene en el ciclo del carbono y que actúa en la hidrólisis de los enlaces  $\beta$ -glucosídicos. La hidrólisis de estos enlaces tiene un papel muy importante en la obtención de energía por parte de los microorganismos del suelo (Eivazi y Zakaria, 1993). El método descrito toma como referencia el estudio de Tabatabai (Anexo 1).

#### **h) Medida de la actividad de la enzima fosfatasa**

La fosfatasa es una hidrolasa que activa la transformación del fósforo orgánico a inorgánico y así conseguir que este sea asimilable por las plantas. Es muy importante conocer la actividad de esta enzima ya que participa en la descomposición de la materia orgánica y aporta información sobre la cantidad de microorganismos existentes en el suelo (Effron *et al.*, 2006). (Anexo 1).

### **3.4 Análisis estadísticos**

Una vez que se obtuvieron los datos referidos a los análisis de los suelos en el laboratorio, se dispusieron de manera adecuada en un Excel y se prepararon para realizar los análisis estadísticos pertinentes para dar respuesta a los objetivos. Para ello, se hicieron uso de los programas R y Sigmaplot.

La realización de estos análisis se separó según nuestros objetivos:

#### **Objetivo 1: ¿Cómo afecta la fragmentación del hábitat, su calidad y la interacción entre ellas a cada una de las funciones?**

Para dar respuesta a este objetivo, se consideró que se debía separar la comprensión de la funciones entre sus cambios respecto al área del parche (fragmentación), al área foliar (calidad del parche) y a las posibles interacciones que se pueden dar entre ellos. Para esto, en primer lugar se analizaron los datos obtenidos de las funciones del ecosistema para corroborar qué tipo de análisis estadístico debía emplearse. Se utilizó el programa R para determinar si las funciones seguían un modelo lineal o un modelo cuadrático. Para la obtención de las figuras se utilizó el programa Sigmaplot.

#### **Objetivo 2: ¿Cómo las sinergias y los compromisos entre los servicios ecosistémicos vienen afectados por la fragmentación del hábitat, su calidad y la interacción entre ellas?**

Para dar respuesta a este objetivo se utilizaron las correlaciones de Spearman que nos permiten conocer el grado de relación existente entre cada una de las funciones del ecosistema. Para tener una mejor idea de las causas de estas correlaciones, se separaron de

cuatro formas diferentes según se realizaron de manera global (usando los datos brutos), eliminando los efectos de la fragmentación (área del parche), eliminando los efectos de la calidad del parche (área foliar) y eliminando los efectos de la fragmentación y de la calidad del parche. Para eliminar estos efectos, por ejemplo el del área del parche se realizaba la representación de cada función respecto al área del parche y de aquí se extrajeron los residuales, una vez obtenidos estos residuales de cada función se realizaban correlaciones de Spearman y así se eliminaban los efectos del área del parche en estas. Esto se repitió para eliminar el efecto del área foliar y de la interacción entre ellas. También se realizaron las correlaciones con los datos brutos, sin eliminar ningún efecto. Todo esto se realizó con el programa R.

A continuación, para cada uno de estas 4 formas de tratar los datos se separaron según sus correlaciones dieron resultados positivos (sinergias) y negativos (compromisos). Después mediante el uso de Sigmaplot se realizó un ANOVA para determinar si existían diferencias entre las correlaciones positivas de los 4 tipos de datos y otro ANOVA para analizar las diferencias entre las correlaciones negativas. Mediante todo esto se pudieron estudiar las sinergias y los compromisos entre servicios ecosistémicos.

### **Objetivo 3: ¿Cómo afecta la fragmentación del hábitat y su calidad a la multifuncionalidad del ecosistema?**

Con el fin de integrar la respuesta de cada función, y las relaciones entre ellas, en una sola medida global, utilizamos un índice de multifuncionalidad. La multifuncionalidad corresponde al nivel de integración que alcanzan las diferentes funciones de los ecosistemas.

Para conocer la influencia producida por el área del parche y la calidad de este a la multifuncionalidad, en primer lugar se procedió a calcular la media de los datos estandarizados para cada uno de los parches y así obtener el valor de multifuncionalidad. A continuación, se utilizó el programa R para definir si nuestro modelo estadístico se ceñía mejor a una distribución normal o cuadrática. Para la obtención de las figuras se utilizó el programa Sigmaplot.



### **3.5 Cronograma**

A continuación se va a detallar la organización que se ha seguido para la realización de todo el trabajo.

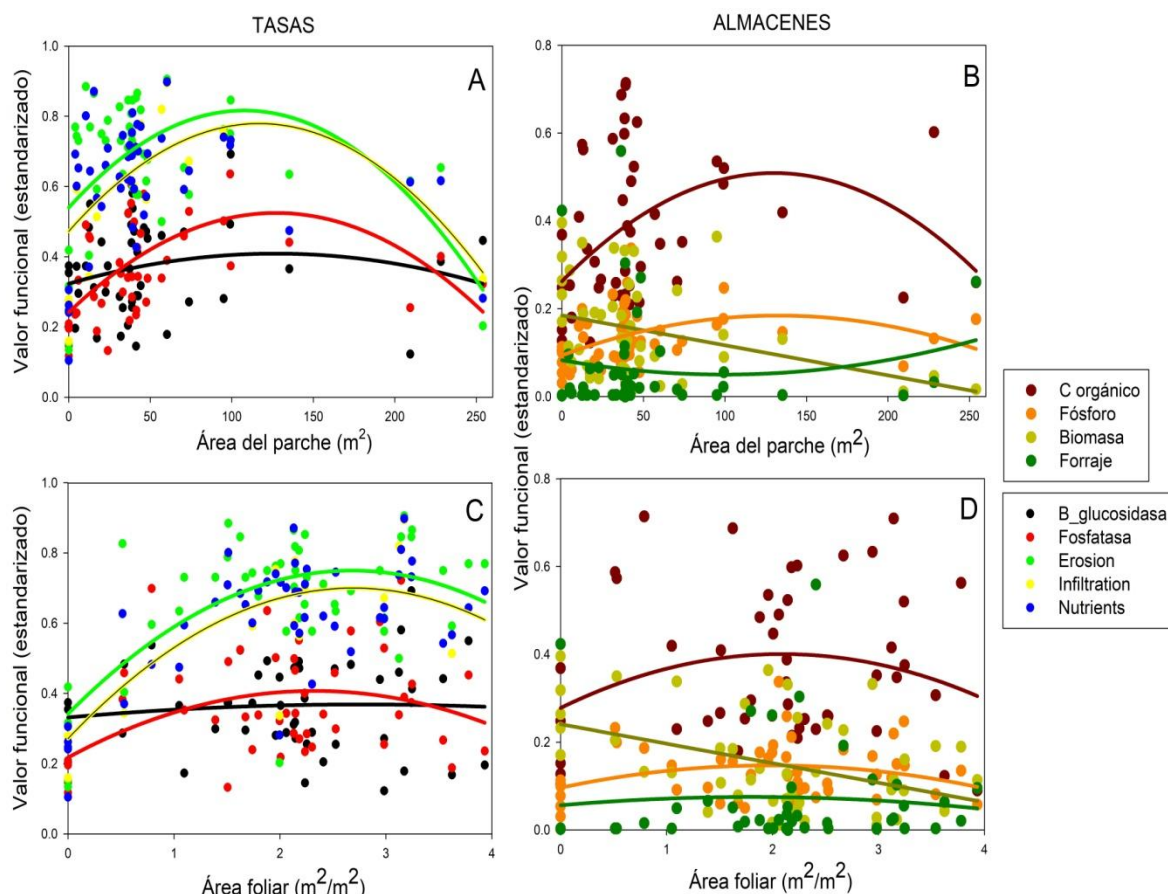
**Tabla 2.** Cronograma (cada uno de los meses se ha dividido en quincenas).

TAREAS	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO
Revisión bibliográfica						
Análisis de suelo						
Análisis estadísticos						
Escritura						
Revisión del trabajo						
Entrega						
Defensa						

## **4. Resultados**

**Objetivo 1: ¿Cómo afecta la fragmentación del hábitat, su calidad y la interacción entre ellas a cada una de las funciones?**

Al dar como resultado que los procesos de interacciones no eran significativos se decidió representar el efecto de la fragmentación y de la calidad por separado y a su vez separar las funciones según si eran tasas (procesos que relacionan dos variables) o almacenes (reservorios del suelo) para comprender mejor los procesos del ecosistema.



**Figura 2.** Representación de cada una de las funciones del ecosistema respecto el área del parche y el área foliar.

Las funciones relacionadas con tasas respondieron de forma unimodal al área del parche, esto es, mostrando un máximo bajo parches de tamaño intermedio, de unos 100 m<sup>2</sup> (Figura 2 (A)). En todos los casos, los datos se ajustaron mejor a un modelo cuadrático que a uno lineal, ya que fue con el que mayor significación de los resultados se obtenía y una R<sup>2</sup> más alta (Tabla 3). Existen diferencias significativas (p-valor < 0,05) en la fosfatasa, la erosión, la infiltración y los nutrientes. Para todas estas funciones, se pudo apreciar como su tendencia era unimodal y alcanzaba su punto máximo en zonas con un área del parche media, luego se reduce. Las tasas de infiltración y de nutrientes eran las funciones que más respondían a cambios en el área del parche. Sin embargo, en la  $\beta$ -glucosidasa no existía esta significación y la R<sup>2</sup> tenía un valor bastante bajo. Respecto a la tendencia de esta función se puede observar que se mantiene constante a lo largo de toda la variedad de áreas del parche.

Todas las funciones relacionadas con almacenes de nutrientes, a excepción de la biomasa, también siguieron un patrón unimodal en respuesta al tamaño del parche, con valores máximos en parches de área intermedia, muy parecido a las tasas (aproximadamente 125 m<sup>2</sup>- Figura 2 (B)). La biomasa en cambio, disminuyó de forma lineal con el tamaño del parche. El

único almacén que no respondió al área del parche fue el valor forrajero ya que su modelo resultó no ser significativo y su valor de  $R^2$  fue muy bajo.

**Tabla 3.** Tabla con los valores estadísticos respecto al área del parche de las funciones representadas en la figura 1 para las tasas en la parte de arriba en azul y los almacenes abajo en naranja.

	<b>β-glucosidasa</b>		<b>Fosfatasa</b>		<b>Erosión</b>		<b>Infiltración</b>		<b>Nutrientes</b>	
	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor
Área	1,24	0,222	3,754	0,0005*	2,874	0,006*	2,63	0,012*	2,606	0,012*
Área2	-0,993	0,326	-3,215	0,002*	-2,919	0,005*	-3,194	0,002*	-3,191	0,002*
R <sup>2</sup>	0,042		0,31		0,477		0,523		0,526	
	<b>C orgánico</b>		<b>Fósforo</b>		<b>Biomasa</b>		<b>Forraje</b>			
	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor		
Área	2,605	0,012*	2,587	0,013*	-2,483	0,016*	-0,284	0,778		
Área2	-2,367	0,022*	-2,332	0,024*			0,836	0,408		
R <sup>2</sup>	0,165		0,163		0,118		0,021			

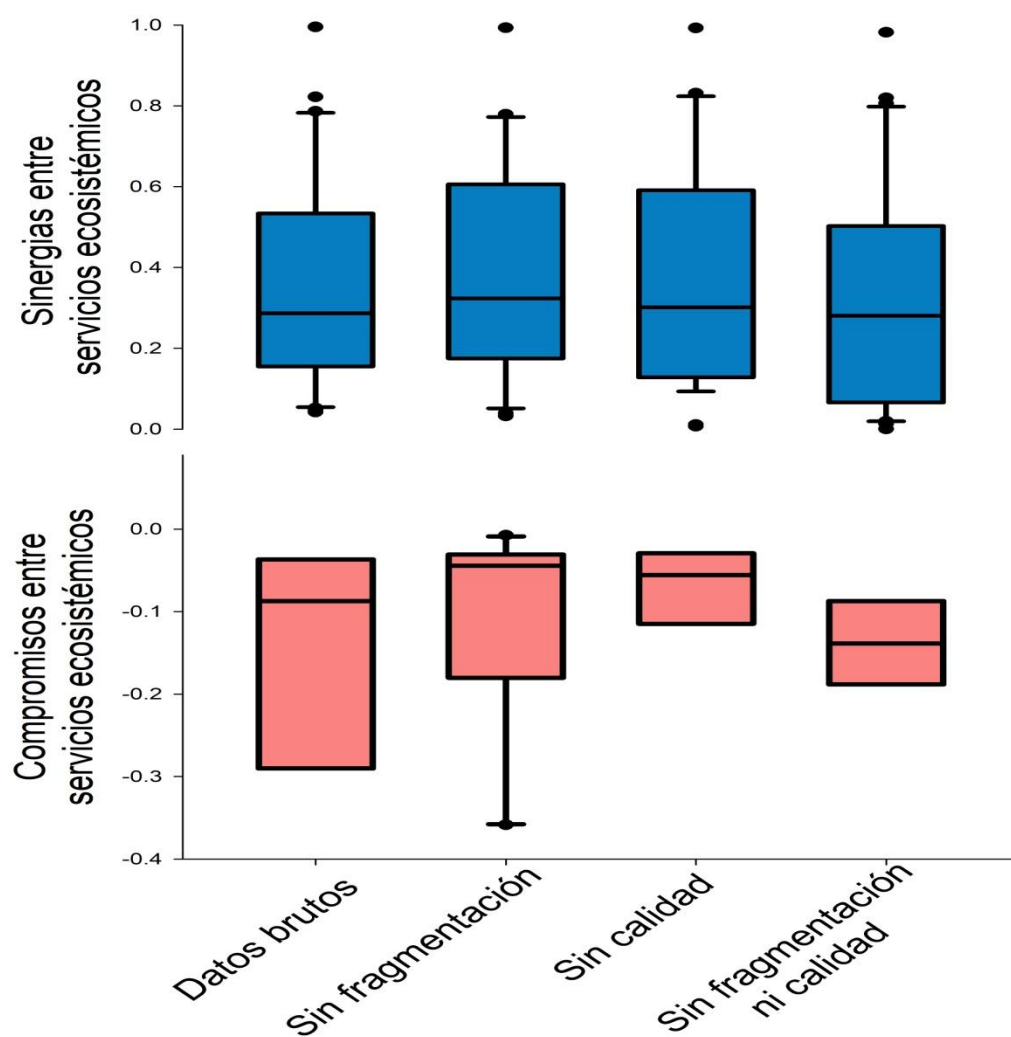
Las funciones relacionadas con las tasas respondieron de forma unimodal al área foliar (Figura 2 (C)). Para los nutrientes, la infiltración y la erosión sus máximos se alcanzaron a mitad de área foliar ( $2 \text{ m}^2/\text{m}^2$ ) y se mantuvieron constantes hasta los puntos más altos de área foliar donde se observó un pequeño descenso. Respecto a la fosfatasa, alcanzó su punto máximo en un valor intermedio de área foliar (similar que las 3 anteriores funciones) y en valores mayores y menores de área foliar descendió. La única tasa que no obtuvo valores significativos fue la β-glucosidasa (Tabla 4). Sus valores se mantuvieron constantes a lo largo del área foliar.

En relación a la (Figura 2 (D)) que relaciona los almacenes con el área foliar. Aquí se puede observar como el único modelo con almacenes que presenta valores significativos fue la biomasa, que además se relaciona con un modelo lineal, a pesar de que posee una  $R^2$  muy baja (Tabla 4). Para el forraje y el fósforo los valores se mantuvieron estables a lo largo de todo el rango del área foliar. Por último, en relación al carbono orgánico, se puede apreciar una pequeña elevación a un área foliar media ( $2 \text{ m}^2/\text{m}^2$ ) y en el resto de valores de área foliar se mantuvo estable.

**Tabla 4.** Tabla con los valores estadísticos respecto al área foliar de las funciones representadas en la figura 1 para las tasas en la parte de arriba en azul y los almacenes abajo naranja.

	<b>β-glucosidasa</b>		<b>Fosfatasa</b>		<b>Erosión</b>		<b>Infiltración</b>		<b>Nutrientes</b>	
	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>
Área foliar	0,268	0,79	2,214	0,032*	6,064	2,9E -07*	7,282	5,4E -09*	7,363	3,8E -09*
Área foliar2	-0,007	0,994	-1,497	0,141	-4,24	0,0001*	-5,306	3,7E -06*	-5,348	3,2E -06*
R^2	0,02		0,187		0,584		0,643		0,648	
	<b>C orgánico</b>		<b>Fósforo</b>		<b>Biomasa</b>		<b>Forraje</b>			
	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>	<b>t</b>	<b>p-valor</b>		
Área foliar	1,141	0,26	1,43	0,159	-3,184	0,002*	0,28	0,781		
Área foliar2	-0,87	0,388	-1,242	0,221			-0,268	0,79		
R^2	0,073		0,09		0,181		0,005			

**Objetivo 2: ¿Cómo las sinergias y los compromisos entre los servicios ecosistémicos vienen afectados por la fragmentación del hábitat, su calidad y la interacción entre ellas?**



**Figura 3.** Representación del nivel de relación entre servicios ecosistémicos según sean positivas (sinergias) o negativas (compromisos) con 4 distintos tratamientos de los datos.

**Tabla 5.** Tabla con los valores estadísticos del ANOVA realizado para las sinergias y los compromisos de la Figura 2.

<b>Sinergias</b>	$F_{3, 111} = 0,236$	p-valor = 0,871
<b>Compromisos</b>	$F_{3, 25} = 0,759$	p-valor = 0,527

No encontramos diferencias significativas entre las sinergias y los compromisos entre los servicios ecosistémicos. Pero lo que se pudo apreciar si observamos la Figura 3 era que con el empleo de los datos sin quitar ninguna influencia, el rango de las correlaciones era empleo de los datos sin quitar ninguna influencia, el rango de las correlaciones era más amplio, mientras que sin el efecto de la fragmentación, la calidad y de los dos, este rango se reduce y se concentran los valores. Además, si se realiza la comparación entre las sinergias y los compromisos se puede deducir que existen mayor cantidad de sinergias (valor medio mayor a 0,2) que de compromisos (media cercana a -0,1) dentro de los servicios ecosistémicos. Por otra parte, no se apreciaron diferencias cuando se eliminó el efecto de estas dos variables del ecosistema, tanto de manera conjunta como por separado (Tabla 5).

Respecto a las correlaciones que se realizaron, en cualquiera de los 4 tipos, el nivel de correlación fue muy parecido porque como se ha comentado anteriormente. Estas correlaciones son positivas menos en el caso en el que se relaciona la enzima fosfatasa con la erosión y los nutrientes, y la biomasa con la erosión y los nutrientes que se obtienen valores negativos. Si nos fijamos en las correlaciones más altas, se puede apreciar como las funciones más relacionadas son la erosión, los nutrientes y la infiltración entre ellas y por otro lado la fosfatasa, la  $\beta$ -glucosidasa, el fósforo y el carbono orgánico entre ellas también poseen alta relación (Tablas 6-9). Otro aspecto contrastable es que el forraje presentó niveles de correlación muy bajos con todas las funciones e incluso al eliminar el efecto del área, la correlación entre los nutrientes, la infiltración y la erosión y el forraje era negativa.

**Tabla 6.** Correlaciones entre las funciones con los datos brutos.

	C orgánico	Fósforo	$\beta$ -glucosidasa	Fosfatasa	Forraje	Biomasa	Erosión	Infiltración	Nutrientes
C orgánico									
Fósforo	0,822								
$\beta$ -glucosidasa	0,621	0,504							
Fosfatasa	0,786	0,702	0,504						
Forraje	0,052	0,049	0,134	0,213					
Biomasa	0,116	-0,054	0,201	0,073	-0,120				
Erosión	0,315	0,304	0,090	0,336	0,162	0,042			
Infiltración	0,271	0,302	-0,018	0,307	0,202	-0,295	0,726		
Nutrientes	0,248	0,282	-0,043	0,292	0,196	-0,288	0,752	0,995	



**Tabla 7.** Correlaciones entre las funciones sin el efecto de la fragmentación del hábitat.

	C orgánico	Fósforo	$\beta$ -glucosidasa	Fosfatasa	Forraje	Biomasa	Erosión	Infiltración	Nutrientes
C orgánico									
Fósforo	0,779								
$\beta$ -glucosidasa	0,584	0,489							
Fosfatasa	0,745	0,670	0,468						
Forraje	0,039	-0,023	0,179	0,056					
Biomasa	0,161	-0,007	0,210	0,082	0,032				
Erosión	0,372	0,366	0,090	0,407	-0,123	-0,036			
Infiltración	0,279	0,324	-0,035	0,324	-0,033	-0,358	0,741		
Nutrientes	0,275	0,309	-0,057	0,314	-0,053	-0,351	0,769	0,993	

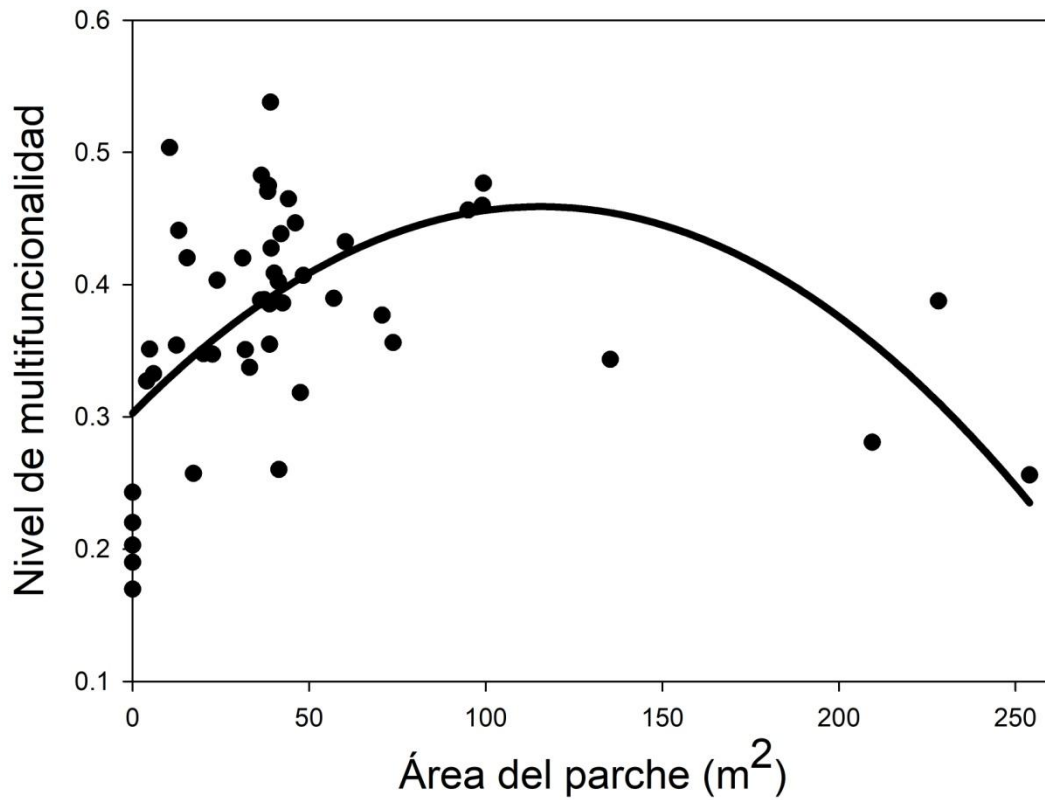
**Tabla 8.** Correlaciones entre las funciones sin el efecto de la calidad del hábitat.

	C orgánico	Fósforo	$\beta$ -glucosidasa	Fosfatasa	Forraje	Biomasa	Erosión	Infiltración	Nutrientes
C orgánico									
Fósforo	0,831								
$\beta$ -glucosidasa	0,618	0,509							
Fosfatasa	0,780	0,705	0,510						
Forraje	-0,012	-0,025	0,105	0,108					
Biomasa	0,128	-0,057	0,238	0,113	-0,041				
Erosión	0,276	0,271	0,011	0,328	0,007	0,102			
Infiltración	0,292	0,314	-0,054	0,311	0,144	-0,133	0,791		
Nutrientes	0,282	0,319	-0,065	0,315	0,129	-0,131	0,823	0,993	

**Tabla 9.** Correlaciones entre las funciones sin el efecto de la fragmentación ni de la calidad del hábitat.

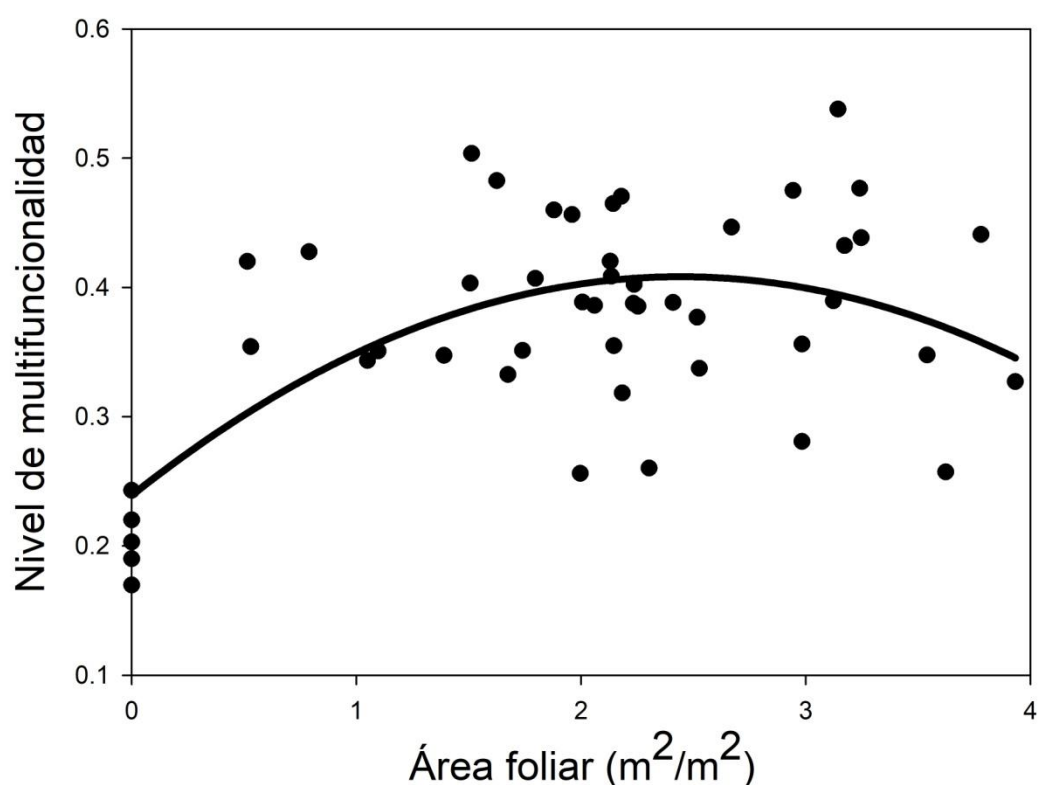
	C orgánico	Fósforo	$\beta$ -glucosidasa	Fosfatasa	Forraje	Biomasa	Erosión	Infiltración	Nutrientes
C orgánico									
Fósforo	0,806								
$\beta$ -glucosidasa	0,592	0,502							
Fosfatasa	0,762	0,694	0,482						
Forraje	0,066	0,019	0,208	0,136					
Biomasa	0,178	0,013	0,247	0,177	0,031				
Erosión	0,280	0,262	-0,068	0,304	0,000	0,028			
Infiltración	0,288	0,314	-0,106	0,301	0,044	-0,190	0,767		
Nutrientes	0,267	0,305	-0,139	0,286	0,020	-0,186	0,820	0,982	

**Objetivo 3: ¿Cómo afecta la fragmentación del hábitat y su calidad a la multifuncionalidad del ecosistema?**



**Figura 4.** Representación de la variación de la multifuncionalidad respecto al área del parche (fragmentación del hábitat).





**Figura 5.** Representación de la variación de la multifuncionalidad respecto al área foliar (calidad del parche).

Al igual que en el caso de las funciones individuales, los valores máximos de multifuncionalidad se dieron en parches de tamaño medio (Figura 5). Por otro lado, en relación al área foliar, también se alcanzan la mayor multifuncionalidad del sistema en valores medios del área foliar (Figura 5). Además se puede comprobar que los modelos unimodales empleados para ambos casos fueron significativos (Tabla 10).

Es interesante comentar que los valores de multifuncionalidad estuvieron mayormente entre el 30 y el 50%. Por último, los valores más bajos de multifuncionalidad obtenidos coinciden con las zonas de claros, que fueron las zonas en las que no había presencia de *Quercus ilex* y por ello los valores de área del parche y de área foliar eran igual a 0.

**Tabla 10.** Valores estadísticos de la multifuncionalidad respecto al área del parche y el área foliar.

	Multifuncionalidad			Multifuncionalidad	
	t	p-valor		t	p-valor
Área	3,63	0,0007*	Área foliar	4,897	1,4E -05*
Área2	-3,599	0,0008*	Área foliar2	-3,626	0,0007*
R^2	0,419		R^2	0,42	

## **5. Discusión**

### **El tamaño determina más el funcionamiento que la calidad del hábitat**

Nuestros resultados indican que la fragmentación tiene un papel más determinante en el funcionamiento del ecosistema que la calidad del mismo debido a sus mayores efectos en la mayoría de las funciones del ecosistema estudiadas. Recientemente se realizó el desarrollo de un marco teórico que vinculaba la fragmentación del hábitat con el funcionamiento del ecosistema (Liu *et al.*, 2018). De aquí se derivaron dos predicciones que coinciden con los resultados aquí obtenidos. En primer lugar, los parches con un mayor tamaño sufren procesos de homogeneización en los que sus valores de funcionamiento son menores. La segunda predicción radica en que los efectos causados en parches de mayor tamaño son más débiles ya que al ser sistemas con una mayor cantidad de especies y en los que se dan una mayor cantidad de procesos, la alteración de alguna de sus partes resulta de una mayor redundancia (Leibold *et al.*, 2017). Nuestros resultados, y los potenciales mecanismos explicados arriba parecen indicar que el funcionamiento ecosistémico se optimiza a un tamaño medio de parche, entre los 100 y los 125 m<sup>2</sup> aproximadamente. Esto se debe principalmente a causa del conocido concepto de heterogeneidad, donde también resulta importante el desarrollo de micrositios. En un estudio anterior se ha mostrado como la heterogeneidad ambiental, medida en parcelas de 15 x 15 (superficie similar a la que en nuestro estudio se presenta el máximo grado de funcionalidad), afectaba de manera positiva al funcionamiento del ecosistema (Bergholz *et al.*, 2017). Respecto al estudio mencionado anteriormente, se observó que los cambios en esta heterogeneidad también se observaron entre zonas muy cercanas. Esto se atribuyó a que hay funciones en el sistema que no se han medido a la escala correcta. Por ello se concluyó que la heterogeneidad aparece en los ecosistemas como un factor estabilizador para la correcta interacción de estos diferentes micrositios.

## **Existen más sinergias que compromisos entre servicios ecosistémicos**

Uno de los retos que se presentan en el futuro respecto a los servicios ecosistémicos es el nivel de relación existente entre ellos y por otra parte, si este agrupamiento siempre se puede realizar de la misma manera o se diferencian en el tiempo y en el espacio. Para ello, se ha planteado la realización de estudios con condiciones similares en diferentes lugares y estudios con condiciones diferentes en el mismo lugar (Raudsepp-Hearne *et al.*, 2010). A pesar de todas estas investigaciones llevadas a cabo, sigue resultando complicado la total comprensión del funcionamiento del ecosistema. Además se pretende conseguir un equilibrio entre lo social y lo ecológico, por ello es importante conocer las interacciones entre los servicios ecosistémicos y así lograr la predicción y el modelado en paquetes. Para conseguir estos objetivos, una de las herramientas de las que poco a poco se va haciendo un gran uso es el índice de nutrientes LFA, que resulta explicativo en zonas áridas, que no dispongan de una vegetación muy continuada y en la cual la tasa de pastoreo no sea muy elevada (Eldridge and Delgado-Baquerizo, 2018), todas estas condiciones se cumplen en la zona de estudio.

Dos aspectos muy relevantes en el estudio de estos servicios ecosistémicos son las sinergias (mejora de varios servicios por la complementación entre ellos) y los compromisos (la reducción de la prestación de uno, aumenta la de otro). La combinación entre estos aspectos, en un futuro permitirá poder evolucionar de un estudio observacional como el que se realizó actualmente a uno en el que interviniendo de manera manipulativa poder ayudar tanto al ser humano aprovechándose de los servicios, como al ecosistema obteniendo un elevado grado de funcionalidad. Para este caso en concreto, se han podido comprobar las sinergias que existen entre las funciones del carbono orgánico, la disponibilidad de fósforo en el suelo, la fosfatasa y la  $\beta$ -glucosidasa. Esto repercute de manera directa en servicios ecosistémicos de regulación como el secuestro de nutrientes por el ecosistema y regulación hidrológica y control de la erosión. Por otro lado, existe una importante relación positiva entre el flujo de nutrientes, la infiltración y la erosión, son funciones que se ha podido comprobar que en el ecosistema tienen unos valores cercanos al máximo, que indican una alta tasa de renovación de nutrientes, una correcta infiltración del agua y unos valores de erosión bajos. Todo esto mencionado, se encuentra ligado de nuevo a servicios ecosistémicos de regulación como el control de la erosión y regulación hidrológica.

En relación a los compromisos, se comprobó que la cantidad es mucho menor, pero también están presentes. Por ejemplo, uno de los compromisos existentes que se ha podido contrastar es la relación negativa entre la erosión y los nutrientes con la biomasa. Para este caso puede ser que a más cantidad de biomasa, hay mayor cantidad de nutrientes en la parte aérea y menos en el suelo, que produce un menor reciclado de nutrientes. Esto puede estar relacionado con otro de los compromisos encontrados, que es la relación negativa entre la fosfatasa y la erosión y los nutrientes. Este resultado es razonable ya que si existe un menor reciclado de nutrientes y están más presentes en partes superficiales, hay mayor actividad enzimática por parte de la fosfatasa. Cabe destacar que para la biomasa y el valor de forraje su nivel de correlación con todas las funciones fue muy bajo. Respecto al forraje se ha de decir que por la base de datos utilizada (Esteve y Cerveró, 2018), habían bastantes especies sin información sobre su valor forrajero y con ello gran cantidad de parches finalmente no han obtenido un valor forrajero que se pueda corresponder con la realidad. Para la biomasa, tuvo un papel importante que dentro del ecosistema existieran parches en los que las encinas presentes estuvieran afectadas por la seca y ello afectase a la producción de biomasa ya que al eliminar sus efectos, las correlaciones con el resto de funciones fueron más positivas.

También resulta relevante hablar de los cuatro tipos de tratamientos realizados para poder responder a este objetivo. Primero, los datos brutos, luego eliminando la influencia de la fragmentación del hábitat, el tercero eliminando el efecto de la calidad del parche y finalmente eliminando ambos efectos de las correlaciones realizadas. Por último, se pudo comprobar que no existían diferencias significativas entre los resultados obtenidos de estos tratamientos. Es por ello que se puede asumir que para este caso aparecen unas relaciones intrínsecas entre las distintas funciones consideradas. Esto significa que estas sinergias y estos compromisos no están causados debido a factores ambientales o de la gestión, sus motivos son fisiológicos o ecológicos. Por ejemplo, una alta tasa de los descomponedores del suelo libera nutrientes, pero inevitablemente van a reducir el contenido de carbono en el suelo (Felipe-Lucia *et al.*, 2018). Esto último sugiere que en el manejo del bosque se deberían tener en cuenta los aspectos fisiológicos y ecológicos de forma conjunta y no modificarlos por separado. Aunque se deben de gestionar con cuidado ya que si se deben a factores intrínsecos puede que el manejo no sirva para nada y sea imposible eliminar los compromisos para promover las sinergias. Además se ha comprobado que los servicios con procesos en los que participa el subsuelo (por ejemplo las actividades enzimáticas), son más difíciles de modificar ya que sus escalas de tiempo son más largas, esto se aplica a los compromisos anteriormente descritos en

relación a la biomasa y a la fosfatasa. Sin embargo, los servicios relacionados con la parte aérea de los ecosistemas como la producción de madera, el almacenamiento de C en los árboles y muchos servicios culturales tienen más fácil manejo (Felipe-Lucia *et al.*, 2018). Este manejo debe enfocarse en funciones particulares, ya que si se analizan desde una perspectiva general puede haber muchos aspectos que varíen. La función de este manejo no es otra que la de mitigar las compensaciones de los servicios de los ecosistemas.

También resulta importante tener en cuenta los aspectos socioecológicos para el manejo de estos paisajes. Por ejemplo, si se apuesta por un modelo de gestión en el que existan ecosistemas heterogéneos, se van a promover sinergias en servicios como por ejemplo el aumento de belleza paisajística y sentimientos de pertenencia por parte de la población (Felipe-Lucia *et al.*, 2018).

### **La heterogeneidad puede determinar la multifuncionalidad del ecosistema**

Para evaluar la respuesta de múltiples funciones a cambios en el ecosistema, teniendo en cuenta las correlaciones intrínsecas que hemos observado entre ellas, se ha de trabajar más en el concepto de multifuncionalidad que nos indica la capacidad del ecosistema de proporcionar de manera simultánea diversas funciones (Byrnes *et al.*, 2014). Los valores encontrados se encuentran dentro del rango de otros estudios (entre el 30 y el 50%); (Soliveres *et al.*, 2016) se obtuvieron valores similares a los nuestros.

Observamos los mayores valores de multifuncionalidad en hábitats de tamaño y área foliar medias. Para conseguir este máximo grado de multifuncionalidad se debe hacer hincapié en la creación de ecosistemas heterogéneos. Para un mejor análisis de la heterogeneidad, se realizó un gráfico para analizar las diferencias entre las zonas de claros y según si el tamaño del parche era pequeño, medio o grande (detalles en Anexo 2). Prueba de ello es que para este estudio los valores de multifuncionalidad en los claros (parche en el que no había presencia de *Quercus ilex*) eran muy bajos en comparación del resto, esto se puede deber al menor nivel de heterogeneidad encontrada en los claros (Anexo 2). Respecto a la comparación de esta heterogeneidad, se obtuvieron los valores iguales en parches de tamaño pequeño y medio. Por tanto, la bajada en el funcionamiento encontrada entre tamaños medios y grandes se podría asociar a una heterogeneidad no medida (por ejemplo la luz). Esto se sustenta en relación al

área foliar, ya que en la (Figura 4) a los valores máximos de área foliar, la multifuncionalidad también sufre un descenso.

Respecto a este estudio, se ha podido contrastar que las funciones del ecosistema más sensibles respecto a cambios en el tamaño del parche son los almacenes correspondientes al carbono orgánico y el fósforo y las tasas de erosión, reciclado de nutrientes, infiltración y la enzima fosfatasa. Esto es debido a que sus modelos tuvieron mayor significación y resultaron ser más explicativos. Para una mayor profundización en qué funciones tienen más implicación en la multifuncionalidad del ecosistema, en un futuro se podrían relacionar una mayor cantidad de funciones y a su vez ligarlo con la biodiversidad, como es el caso en otros estudios (Meyer *et al.*, 2017). En este estudio se evaluaron las relaciones existentes entre 82 funciones del ecosistema, se tuvieron en cuenta aspectos de biodiversidad y se terminó relacionando con los servicios ecosistémicos. Uno de los ejemplos de funciones que se podrían tener en cuenta para un futuro sería el de interacciones mutualistas entre diferentes grupos tróficos. Podría ser de gran utilidad en un futuro, seguir profundizando en estudios similares al realizado, pero agregando aspectos relacionados con la biodiversidad, como se dio en este caso (Zirbel *et al.*, 2019). En él se concluyó que los aspectos más relevantes para la evaluación de la biodiversidad son el contexto del paisaje y la biodiversidad funcional. Uno de los problemas encontrados en el estudio de la multifuncionalidad es que no se pudo cuantificar a nivel de paisaje, que sería la medida necesaria para su mayor comprensión, la gran mayoría de las medidas se han realizado en escalas menores a 1 ha (Manning *et al.*, 2018), como es nuestro caso.

## **6. Conclusión**

En primer lugar, en el caso del estudio de las funciones del ecosistema por separado, el tamaño del hábitat resulta más importante que la calidad de este. El tamaño que más óptimo ha resultado ha sido en parches con un hábitat entre unos 100 y 125 m<sup>2</sup>. En ese punto, el ecosistema ha encontrado el mayor acoplamiento de sus funciones debido a la proporción de la heterogeneidad necesaria para alcanzarlo. Sin embargo, para la multifuncionalidad del ecosistema, el tamaño y la calidad del hábitat tuvieron la misma relevancia.

Por otro lado, hablando de los servicios ecosistémicos, se pudo comprobar que existen una mayor cantidad de sinergias que de compromisos. Esto aporta un indicador de que el ecosistema se encuentra en el buen camino de alcanzar un estado óptimo de multifuncionalidad. Además, mayor prueba de esto es que los compromisos que se detectaron se encuentran ligados a procesos naturales del ecosistema y por ello no se pueden evitar. Los servicios que más relevancia se han encontrado en este estudio son los de regulación, en concreto el del control de la erosión, el de regulación hidrológica y el secuestro de nutrientes por parte del ecosistema.

Respecto a tareas que se pueden comenzar a promover de cara al futuro. En primer lugar, realizar mayor cantidad de estudios que nos den más información sobre los servicios ecosistémicos, para ello es importante contar en estos estudios aspectos ligados a la biodiversidad. En segundo lugar, en estos estudios realizar variaciones respecto al contexto del hábitat, es decir, probar con hábitats de diferentes tamaños para así comprobar cada servicio con qué escala espacial se relaciona. En tercer lugar, abrir un espacio para los servicios culturales, como por ejemplo promover sitios para el avistamiento de aves, realización de acciones que aumente el servicio de belleza paisajística del lugar y aumentar el del sentido de pertenencia de la población por la Font Roja.

## **6. Conclusion**

First, in the case of the study of ecosystem functions separately, the size of the habitat is more important than the quality of it. The most optimal size has been in patches with a habitat between 100 and 125 m<sup>2</sup>. At that point, the ecosystem has found the greatest coupling of its functions due to the proportion of the heterogeneity necessary to achieve it. However, for the multifunctionality of the ecosystem, the size and quality of the habitat had the same relevance.

On the other hand, speaking of ecosystem services, it was found that there are more synergies than tradeoffs. This provides an indicator that the ecosystem is on the right track to reach an optimum state of multifunctionality. In addition, greater proof of this is that the tradeoffs that were detected are linked to natural processes of the ecosystem and therefore can't be avoided. The services that have been most relevant in this study are those of regulation, in particular that of erosion control, hydrological regulation and nutrient sequestration by the ecosystem.

Regarding tasks that can be started to be promoted in the future. First, to carry out more studies that give us more information about ecosystem services, for this it's important to have aspects related to biodiversity in these studies. Secondly, in these studies make variations with respect to the context of the habitat, that is to say, try with habitats of different sizes in order to check each service with which spatial scale is related. Third, open a space for cultural services, such as promoting sites for bird watching, actions that increase the beauty of the landscape and increase the sense of belonging of the population by Font Roja.



## **7. Bibliografía**

Borrelli, P., Robinson, D., Fleischer, L., Lugato, E., Ballabio, C., Alewell, C., Meusburger, K., Modugno, S., Schütt, B., Ferro, V., Bagarello, V., Oost, K., Montanarella, L. and Panagos, P. (2017). An assessment of the global impact of 21st century land use change on soil erosion. *Nature Communications*, 8(1).

Byrnes, J., Lefcheck, J., Gamfeldt, L., Griffin, J., Isbell, F. and Hector, A. (2014). Multifunctionality does not imply that all functions are positively correlated. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(51), pp.E5490-E5490.

Effron, D. N., Jiménez, M. P., Defrieri, R. L. y Prause, J. (2006). Relación de la actividad de fosfatasa ácida con especies forestales dominantes y con algunas propiedades del suelo de un bosque argentino. *Información tecnológica*, 17(1), 3-7.

Eivazi, F. y Zakaria, A. (1993).  $\beta$ -Glucosidase activity in soils amended with sewage sludge. *Agriculture, ecosystems & environment*, 43(2), 155-161.

Eldridge, D. and Delgado-Baquerizo, M. (2018). Grazing reduces the capacity of Landscape Function Analysis to predict regional-scale nutrient availability or decomposition, but not total nutrient pools. *Ecological Indicators*, 90, pp.494-501.

Esteve, C i Cerveró, J. (2018). Estudi de la palatabilitat aparent i el nivel d'anys en la vegetació per l'efecte dels ungulats al Parc Natural de la Font Roja. Servei de caça i pesca.

Felipe-Lucia, M., Soliveres, S., Penone, C., Manning, P., van der Plas, F., Boch, S., Prati, D., Ammer, C., Schall, P., Gossner, M., Bauhus, J., Buscot, F., Blaser, S., Blüthgen, N., de Frutos, A., Ehbrecht, M., Frank, K., Goldmann, K., Hänsel, F., Jung, K., Kahl, T., Naus, T., Oelmann, Y., Pena, R., Polle, A., Renner, S., Schloter, M., Schöning, I., Schrumpf, M., Schulze, E., Solly, E., Sorkau, E., Stempfhuber, B., Tschapka, M., Weisser, W., Wubet, T., Fischer, M. and Allan, E. (2018). Multiple forest attributes underpin the supply of multiple ecosystem services. *Nature Communications*, 9(1).

Foley, J. (2005). Global Consequences of Land Use. *Science*, 309(5734), pp.570-574.

Generalitat Valenciana, Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient, Canvi Climàtic i Desenvolupament Rural. (2015). Parcs Naturals de la Comunitat Valenciana – Font Roja. Parques Naturales. [Consultado en Abril de 2019]. Disponible en <http://www.parquesnaturales.gva.es>

Gil, A. (dir). (2000). Cartografía temática de las tierras alicantinas. Instituto Universitario de Geografía, Universidad de Alicante, España, 32-33.

Giling, D., Beaumelle, L., Phillips, H., Cesarz, S., Eisenhauer, N., Ferlian, O., Gottschall, F., Guerra, C., Hines, J., Sendek, A., Siebert, J., Thakur, M. and Barnes, A. (2018). A niche for ecosystem multifunctionality in global change research. *Global Change Biology*.

Giménez, D.M., Donate, M.J., Abad, J.F., & Bonet, A. (2017). Caracterización altitudinal de las principales propiedades de los suelos forestales en el Parque Natural de la Font Roja.

Hertzog, L., Boonyarittichai, R., Dekeukeleire, D., Groote, S., Schrojenstein Lantman, I., Sercu, B., Smith, H., Peña, E., Vandegehuchte, M., Bonte, D., Martel, A., Verheyen, K., Lens, L. and Baeten, L. (2019). Forest Fragmentation Modulates Effects of Tree Species Richness and Composition on Ecosystem Multifunctionality. *The Bulletin of the Ecological Society of America*, p.e01550.

Keesstra, S., Pereira, P., Novara, A., Brevik, E., Azorin-Molina, C., Parras-Alcántara, L., Jordán, A. and Cerdà, A. (2016). Effects of soil management techniques on soil water erosion in apricot orchards. *Science of The Total Environment*, 551-552, pp.357-366.

La Notte, A., D'Amato, D., Mäkinen, H., Paracchini, M., Liqueste, C., Egoh, B., Geneletti, D. and Crossman, N. (2017). Ecosystem services classification: A systems ecology perspective of the cascade framework. *Ecological Indicators*, 74, pp.392-402.

Leibold, M., Chase, J. and Ernest, S. (2017). Community assembly and the functioning of ecosystems: how metacommunity processes alter ecosystems attributes. *Ecology*, 98(4), pp.909-919.

Liu, J., Wilson, M., Hu, G., Liu, J., Wu, J. and Yu, M. (2018). How does habitat fragmentation affect the biodiversity and ecosystem functioning relationship?. *Landscape Ecology*, 33(3), pp.341-352.

Liu, R., Steinberger, Y., Hou, J., Zhao, J., Liu, J., Chang, H., Zhang, J. and Luo, Y. (2019). Conversion of cropland into agroforestry land versus naturally-restored grassland alters soil

macro-faunal diversity and trophic structure in the semi-arid agro-pasture zone of northern China. *Journal of Arid Land*, 11(2), pp.306-317.

Manning, P., van der Plas, F., Soliveres, S., Allan, E., Maestre, F., Mace, G., Whittingham, M. and Fischer, M. (2018). Redefining ecosystem multifunctionality. *Nature Ecology & Evolution*, 2(3), pp.427-436.

Martínez, E., Fuentes, J. P. y Acevedo, E. (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 8(1), 68-96.

Meyer, S., Ptacnik, R., Hillebrand, H., Bessler, H., Buchmann, N., Ebeling, A., Eisenhauer, N., Engels, C., Fischer, M., Halle, S., Klein, A., Oelmann, Y., Roscher, C., Rottstock, T., Scherber, C., Scheu, S., Schmid, B., Schulze, E., Temperton, V., Tscharntke, T., Voigt, W., Weigelt, A., Wilcke, W. and Weisser, W. (2017). Biodiversity–multifunctionality relationships depend on identity and number of measured functions. *Nature Ecology & Evolution*, 2(1), pp.44-49.

Mitchell, M., Bennett, E. and Gonzalez, A. (2013). Linking Landscape Connectivity and Ecosystem Service Provision: Current Knowledge and Research Gaps. *Ecosystems*, 16(5), pp.894-908.

Mitchell, M., Bennett, E. and Gonzalez, A. (2015). Strong and nonlinear effects of fragmentation on ecosystem service provision at multiple scales. *Environmental Research Letters*, 10(9), p.094014.

Moya, J. (2016). La seca de la Encina en Andalucía (Trabajo de final de grado, Universidad de Sevilla).

Naeem, S., Duffy, J. and Zavaleta, E. (2012). The Functions of Biological Diversity in an Age of Extinction. *Science*, 336(6087), pp.1401-1406.

Parcs Naturals de la Comunitat Valenciana - Generalitat Valenciana. Alcoy: *Parc Natural de la Font Roja*. [Consultado en Abril de 2019] Disponible en <http://www.parquesnaturales.gva.es>

Raudsepp-Hearne, C., Peterson, G. and Bennett, E. (2010). Ecosystem service bundles for analyzing tradeoffs in diverse landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(11), pp.5242-5247.

Risch, A., Ochoa-Hueso, R., van der Putten, W., Bump, J., Busse, M., Frey, B., Gwiazdowicz, D., Page-Dumroese, D., Vandegehuchte, M., Zimmermann, S. and Schütz, M. (2018). Size-

dependent loss of aboveground animals differentially affects grassland ecosystem coupling and functions. *Nature Communications*, 9(1).

Soliveres, S., van der Plas, F., Manning, P., Prati, D., Gossner, M., Renner, S., Alt, F., Arndt, H., Baumgartner, V., Binkenstein, J., Birkhofer, K., Blaser, S., Blüthgen, N., Boch, S., Böhm, S., Börschig, C., Buscot, F., Diekötter, T., Heinze, J., Hölzel, N., Jung, K., Klaus, V., Kleinebecker, T., Klemmer, S., Krauss, J., Lange, M., Morris, E., Müller, J., Oelmann, Y., Overmann, J., Pašalić, E., Rillig, M., Schaefer, H., Schlöter, M., Schmitt, B., Schöning, I., Schrumpf, M., Sikorski, J., Socher, S., Solly, E., Sonnemann, I., Sorkau, E., Steckel, J., Steffan-Dewenter, I., Stempfhuber, B., Tschapka, M., Türke, M., Venter, P., Weiner, C., Weisser, W., Werner, M., Westphal, C., Wilcke, W., Wolters, V., Wubet, T., Wurst, S., Fischer, M. and Allan, E. (2016). Biodiversity at multiple trophic levels is needed for ecosystem multifunctionality. *Nature*, 536(7617), pp.456-459.

Spake, R., Lasseur, R., Crouzat, E., Bullock, J., Lavorel, S., Parks, K., Schaafsma, M., Bennett, E., Maes, J., Mulligan, M., Mouchet, M., Peterson, G., Schulp, C., Thuiller, W., Turner, M., Verburg, P. and Eigenbrod, F. (2017). Unpacking ecosystem service bundles: Towards predictive mapping of synergies and trade-offs between ecosystem services. *Global Environmental Change*, 47, pp.37-50.

Tewksbury, J., Levey, D., Haddad, N., Sargent, S., Orrock, J., Weldon, A., Danielson, B., Brinkerhoff, J., Damschen, E. and Townsend, P. (2002). Corridors affect plants, animals, and their interactions in fragmented landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(20), pp.12923-12926.

Tongway, D. and Hindley, N. (2004). Landscape function analysis: a system for monitoring rangeland function. *African Journal of Range & Forage Science*, 21(2), pp.109-113.

van der Plas, F., Manning, P., Soliveres, S., Allan, E., Scherer-Lorenzen, M., Verheyen, K., Wirth, C., Zavala, M., Ampoorter, E., Baeten, L., Barbaro, L., Bauhus, J., Benavides, R., Benneter, A., Bonal, D., Bouriaud, O., Bruelheide, H., Bussotti, F., Carnol, M., Castagneyrol, B., Charbonnier, Y., Coomes, D., Coppi, A., Bastias, C., Dawud, S., De Wandeler, H., Domisch, T., Finér, L., Gessler, A., Granier, A., Grossiord, C., Guyot, V., Hättenschwiler, S., Jactel, H., Jaroszewicz, B., Joly, F., Jucker, T., Koricheva, J., Milligan, H., Mueller, S., Muys, B., Nguyen, D., Pollastrini, M., Ratcliffe, S., Raulund-Rasmussen, K., Selvi, F., Stenlid, J., Valladares, F., Vesterdal, L., Zielinski, D. and Fischer, M. (2016). Biotic homogenization can decrease landscape-scale forest multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(13), pp.3557-3562.

Visor Cartogràfic de la Generalitat. Institut Cartogràfic Valencià. Generalitat Valenciana. *Visor de Cartografia*. [Consultado en Abril de 2019] Disponible en <https://visor.gva.es/visor/>

Zirbel, C., Grman, E., Bassett, T. and Brudvig, L. (2019). Landscape context explains ecosystem multifunctionality in restored grasslands better than plant diversity. *Ecology*, 100(4), p.e02634.

Zornoza, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., García-Orenes, F. and Mataix-Beneyto, J. (2006). Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some soil enzyme activities under Mediterranean conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(8), pp.2125-2134.

## **8. Anexos**

### **Anexo 1**

#### **Tamizado de los suelos**

Con la ayuda de un rodillo se desmenuzaron los agregados de suelo de mayor tamaño que se habían podido formar. El resultante obtenido se pasó por un tamiz con un tamaño de poro de 2 mm. El resultante obtenido se introdujo en bolsas de plástico previamente etiquetadas para así más adelante hacer un uso adecuado de las muestras de suelo.

#### **Humedad del suelo**

Se pesaron aproximadamente unos 10 g de suelo en una flanera (este fue el peso fresco), se introdujeron en la estufa a 80°C durante 48 horas para eliminar la humedad presente y se volvió a pesar (este fue el peso seco). A continuación se detalla la fórmula usada para calcular el contenido de humedad en %. Debido a que las muestras una vez recogidas se dejaron secar al aire en el laboratorio, el contenido de humedad era muy similar y se eligieron 30 muestras para realizar este cálculo.

$$\% \text{ Humedad} = (\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}) / (\text{Peso seco}) * 100$$

### **Medida de pH y conductividad**

Para proceder con su medida, se pusieron 10 g de cada una de las muestras de suelo en botes de 100 ml previamente marcados, se le añadieron 50 ml de agua, se agitaron de forma manual durante 3 minutos, se dejaron reposar durante otros 3 minutos y se pusieron a filtrar con ayuda de unos embudos y del papel de filtro. El filtrado que se obtuvo se recogió en unos tubos de 30 ml también previamente marcados y a continuación con el uso de un pH-metro y de un conductímetro se obtuvo el valor correspondiente para cada una de las muestras.

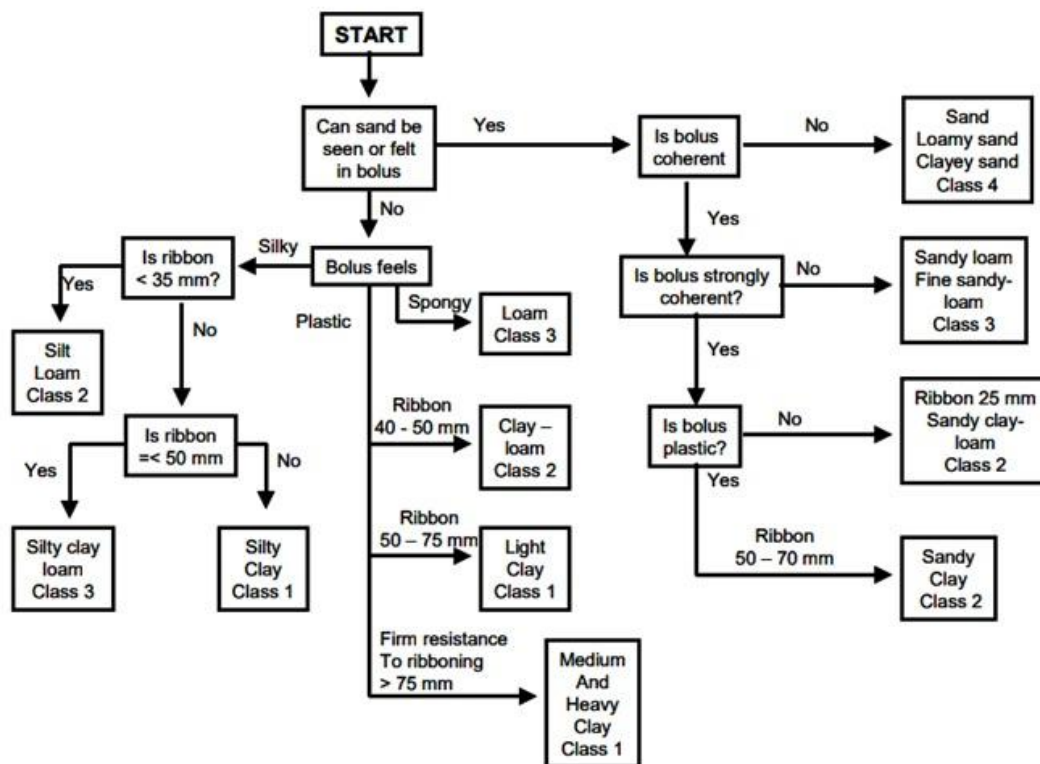
### **Textura del suelo**

Para llevar a cabo el modelo creado por (Tongway and Hindley, 2004) se tomó un puñado de muestra de suelo en la mano pudiendo cerrarse esta con facilidad. Este suelo se humedeció hasta que se llegó a lo que es conocido como un punto pegajoso, que es similar a la capacidad de campo. En ese momento se le comienza a dar forma de bola y se van siguiendo los pasos que se presentan a continuación en la Figura 6.

**Tabla 11.** Tipos de clases según el tipo de textura (Tongway and Hindley, 2004).

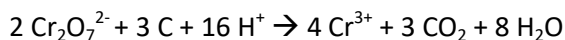
<b>Texture</b>	<b>Class</b>
Silty clay to heavy clay (very slow infiltration rate)	1
Sandy clay loam to sandy clay (slow infiltration rate)	2
Sandy loam to silt loam (moderate infiltration rate)	3
Sandy to clayey sand (high infiltration rate)	4

**Figura 6.** Representación de los pasos a seguir con la bola de suelo (Tongway and Hindley, 2004).



### Medida del carbono orgánico

Este análisis del contenido del suelo de carbono orgánico se basa en la oxidación con dicromato potásico. La capacidad oxidante del cromo se midió mediante esta reacción:



Para realizar esta valoración se utilizaron dos estrategias diferentes:

-Por un lado, se añadió cromo en exceso y se valoró el que se había quedado sin reaccionar. Por diferencia, se calculó el que se había gastado para oxidar el carbono de la muestra. La valoración se realizó con  $\text{Fe}^{2+}$  haciendo uso de la sal de Mohr.

-Por otra parte, se cuantificó por colorimetría el cromo reducido ( $\text{Cr}^{3+}$ ) que se había producido durante la reacción. Este cromo reducido se corresponde con el carbono orgánico que se había oxidado a  $\text{CO}_2$ .

Los reactivos se prepararon de la siguiente forma:

Dicromato potásico 1 N: Se pesaron 49,04 g de  $K_2Cr_2O_7$  y se disolvieron en 500 ml de agua desionizada y se enrasó a 1 litro. Esta fue la solución patrón primario de la reacción.

Sal de Mohr 0.5 N: Se pesaron 196 g de  $Fe (NH_4)_2 (SO_4)_2$  y se añadieron 600 ml de agua desionizada y 20 ml de  $H_2SO_4$  concentrado. Se agitó para disolverse completamente y se enrasó a 1 litro de agua desionizada.

Solución indicadora de ortofenantrolina ferrosa: Se disolvió 1,485 g de ortofenantrolina y 0,695 de  $FeSO_4$  en 50 ml de agua desionizada y se enrasó a 100 ml.

A continuación, se detalla el protocolo que se siguió:

Se pesaron 0,2 g de cada una de las muestras en un matraz erlenmeyer de 250 ml. Se añadieron 10 ml de dicromato potásico 1 N y se agitaron los matraces para que la muestra y el líquido se mezclasen de manera homogénea. A continuación, se añadieron 20 ml del ácido sulfúrico en la campana de gases y agitando para mezclar bien. Se dejaron reposar 30 minutos las muestras y se les añadió 200 ml de agua desionizada, se volvió a agitar y se dejó enfriar. Después se añadieron 4-5 gotas de la solución indicadora y se realizó una valoración con la bureta que contenía la sal de Mohr, se anotaban los ml en los que la solución se ponía roja. Estos pasos se realizaron también con un erlenmeyer sin muestra, que era el blanco y se tomó nota de los ml de su valoración.

Una vez realizados todos los pasos descritos anteriormente se procedió a la obtención de los cálculos:

Primero se procedió a calcular la normalidad de la sal de Mohr utilizando los ml usados en el blanco (B), para ello se empleó la siguiente fórmula:

$$N_{\text{Mohr}} = (10 \text{ ml} * N_{\text{dicr}}) / B \text{ (se asumió que la normalidad del dicromato era 1).}$$

Seguidamente se procedió a calcular los miliequivalentes de dicromato que se emplearon para oxidar el carbono de nuestra muestra a  $CO_2$ :

$$Meq C = (B - X) * N_{\text{Mhor}}$$

X: ml empleados en nuestra muestra

Además, se tuvo en cuenta que 1 miliequivalente de carbono es igual a 3 mg de carbono, con ello:



$$\% \text{ carbono} = (\text{meq C} * 0,003) * (100/ \text{g muestra}) * f$$

El factor de corrección f se aplicó debido a que se sabe que el procedimiento no es suficiente para oxidar todo el carbono orgánico de la muestra. El valor que se recomienda utilizar para f es  $100/77 = 1,30$ .

### **Medida fósforo**

A continuación, se va a realizar una descripción de los pasos a seguir para la preparación de los reactivos empleados:

-Disolución de NaOH 1M: Se disolvieron 40 g de hidróxido de sodio en agua. Se dejó enfriar y se diluyó en 1000 ml con agua.

-Disolución de NaHCO<sub>3</sub> 0,5 M a pH 8,5: Se disolvieron 42 g de bicarbonato de sodio en agua y se diluyó 1 L. Se ajustó el pH a 8,5 con NaOH (cada vez que se utilizó esta disolución se volvió a ajustar el pH).

-Reactivo combinado: Para la preparación de 250 mL se mezclaron 50 mL de molibdato amónico al 0,6% y se le añadieron 150 mL de agua desionizada. A continuación se le añadieron 50 mL de ácido ascórbico al 1,5%.

A su vez, se prepararon cada uno de estos reactivos de manera separada. Para la disolución de molibdato amónico al 0,6 %, se mezclaron 6 g de molibdato amónico y 0,15 g de tartrato de antimonio y potasio que se disolvieron en 500 mL de agua desionizada, se añadieron 74 mL de ácido sulfúrico 98% y se enrasó a 1000 mL con agua desionizada. Para el ácido ascórbico al 1,5% se disolvieron 1,5 mL de ácido ascórbico en unos 50 mL de ácido sulfúrico 0,3 M (este se preparó añadiendo 300 mL de agua con 16,6 mL de ácido sulfúrico 98% y se enrasó a 1 L) y se enrasó hasta los 100 mL con este mismo ácido.

-Solución estándar de 1000 mg/L de P: Se disolvieron 4,39 g de fosfato de dihidrógeno de potasio y enrasar con agua desionizada a 1000 mL.

-Solución estándar de 10 mg/L de P: Se cogieron 1 mL de la disolución de 1000 mg/L anteriormente preparada y se llevaron hasta 100 ml con agua desionizada.

-Serie patrón de P: Se introdujeron en unos matraces aforados de 100 mL 0-1-2-5-10-25-50 mL de la disolución de 10 mg/L y se enrasó con bicarbonato de sodio. Esta serie contiene 0,

0,1, 0,2, 0,5, 1, 2,5 y 5 mg/L de P, que son los valores que más adelante se emplearon para la recta de calibrado.

Además, se realizó una oxidación de las muestras ya que los extractos obtenidos tenían mucho color debido a su alto contenido en fósforo era muy alto y se preparó el siguiente reactivo:

-Solución oxidante: Se disolvieron 20 g de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (persulfato potásico) en unos 500 mL de agua desionizada. Se añadieron 3 g de NaOH en lentejas, se disolvió y se enrasó a 1 L con agua desionizada.

Una vez descrita la forma en la que se prepararon los reactivos se va a realizar la explicación de los pasos llevados a cabo para la medición del fósforo asimilable del suelo:

Se pesaron 5 g de cada una de las muestras, se pusieron dentro de botes de plástico de 100 mL, se le añadieron 50 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,5 M, se cerraron los botes y se agitaron de manera mecánica durante 30 minutos. A continuación, se filtraron las muestras haciendo uso de filtros Whatman, incluyendo dos blancos que se preparan igual pero sin muestra de suelo. Debido a que el color de los extractos era muy oscuro se procedió a la oxidación con persulfato. Se añadieron 5 mL de los extractos en los tubos Pyrex junto a 0,5 mL de ácido sulfúrico 2,25 M y 5 mL de la disolución oxidante y se agitaron bien. Se colocaron los tubos Pyrex en gradillas de metal y se dejaron una hora a 120°C. Una vez realizada la oxidación de las muestras, se transfirieron 5 mL de los patrones, los blancos y de las muestras a un tubo Pyrex, se les añadieron 25 mL de reactivo combinado para que desarrollasen el color azul y se dejaron reposar los tubos durante 1 hora y se midió la absorbancia a 880 nm.

A continuación, se detallan los pasos que se siguieron para la obtención de los datos del fósforo asimilable del suelo:

Una vez obtenidas las absorbancias, mediante la representación de los patrones de 0, 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2,5 y 5 mg/L de P y el cálculo de la ecuación de la recta se procedió al cálculo de la concentración de fósforo en cada una de las muestras y de los blancos en mg/L. Seguidamente se hizo uso de la siguiente fórmula:

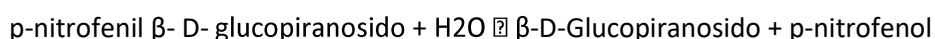
$$P \text{ (mg/kg suelo)} = (a - b) \times 100/s \times mcf$$

Leyenda: a= mg/l de P en cada muestra, b= mg/l de P de los blancos, s= peso de la muestra en g y mcf= factor de corrección para la humedad, se calculó 100/(100 - % humedad).

Finalmente, estos valores se multiplicaron por 2,1 como factor de corrección por el factor de dilución (volumen de 10.5 ml).

### **Medida de la actividad de la enzima $\beta$ -glucosidasa**

El método que a continuación se detalla se basa en la determinación colorimétrica del p-nitrofenol liberado por acción de la  $\beta$ -glucosidasa tras incubar el suelo con el sustrato  $\beta$ -D-glucopiranosido. La reacción que se produce es la siguiente:



A continuación se va a detallar el procedimiento llevado a cabo para la preparación de los reactivos:

-Solución stock (reactivo 1): Se mezclaron 12,2 g THAM (trishidroximetilaminometano) + 11,6 g ácido maleico + 14 g ácido cítrico + 6,28 g ácido bórico + 488 ml NaOH 1M (reactivo 5). Se disolvieron en agua desionizada y se enrasó a 1 litro.

-Tampón MUB, pH 6,5 (reactivo 2): Se tomaron 200 mL de solución stock (reactivo 1), y se llevó el volumen a casi un litro; se ajustó el pH a 6,5 (con HCl 1:1; reactivo 7) y se enrasó a 1 litro.

-Solución sustrato, p-nitrofenil  $\beta$ -D-glucopiranosido 25 mM (reactivo 3): se disolvieron 0,377 g en 50 ml de tampón MUB (reactivo 2).

-CaCl<sub>2</sub> 0,5 M (reactivo 4): Este reactivo vino ya preparado.

-NaOH 1 M (reactivo 5): Se disolvieron 40 gramos de NaOH en 1 litro de agua desionizada.

-NaOH 0,5 M (reactivo 6): Se disolvieron 20 gramos de NaOH en 1 litro de agua desionizada.

-HCl 1:1 (reactivo 7): Se cogieron el mismo volumen de HCl puro (al 35%) y de agua desionizada y se mezclaron.

-Solución extractante (reactivo 8): Se disolvieron 12,2 g THAM (trishidroximetilaminometano), se llevó a casi 1 litro con agua desionizada, se ajustó el pH a 12 con NaOH 0,5M (reactivo 6), y se enrasó a 1 litro.

-Serie de patrones de 0, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 500 y 650 mg/L de p-nitrofenol. Para ello en primer lugar se preparó una disolución madre de 1000 mg/L y se fue diluyendo esta concentración.

Seguidamente se detallará el procedimiento del protocolo que se llevó a cabo:

Para cada una de las muestras se prepararon dos tubos, uno A al que se le añadió el sustrato antes de la incubación y un tubo B que sirvió de control ya que se le añadió el sustrato después de la incubación.

Para la preparación de las muestras A, se pesaron 0,5 g de suelo en tubos de 10 mL. Se añadieron 2 mL de disolución tampón MUB (reactivo 2) y 0,5 mL de la solución sustrato p-nitrofenil  $\beta$ -D-glucopiranosido (reactivo 3). Se agitaron los tubos después de añadir cada reactivo y se incubaron una hora en un baño a 37°C con los tubos destapados. Al sacar los tubos del baño se introdujeron 15 minutos en la nevera. Después se añadieron 0,5 mL de CaCl<sub>2</sub> (reactivo 4). Se añadieron 2 mL de la solución extractante (reactivo 8) y a continuación se añadieron 5 mL de agua desionizada. Después de añadir cada uno de los reactivos y el agua, se agitaron los tubos y después se centrifugaron en tandas de 12 tubos a 3500 rpm durante 5 minutos.

Para la preparación de las muestras B, se procedió de la misma forma, con la única diferencia que los 0,5 mL de la solución sustrato p-nitrofenil  $\beta$ -D-glucopiranosido (reactivo 3) se añadió después de la incubación para que el p-nitrofenol no se liberase.

También se debe de tener en cuenta que con los patrones de 0, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 500 y 650 mg/L de p-nitrofenol se prepararon unos patrones a los que se les añadió 0,5 mL del patrón correspondiente, 2 mL del tampón MUB (reactivo 2), 0,5 mL de CaCl<sub>2</sub>, 2 mL de solución extractante (reactivo 8) y los 5 mL de agua. Se agitaron después de echar cada uno de los reactivos y se centrifugaron a 3500 revoluciones durante 5 minutos aunque no se incubaron.

Después de la centrifugación se midieron las absorbancias tanto de las muestras A como de las B a 400 nm. Lo que el espectrofotómetro nos midió era el p-nitrofenol liberado. Para la obtención de los valores en  $\mu$ moles de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> suelo seco h<sup>-1</sup> se hizo uso de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{moles de p-nitrofenol g}^{-1}\text{ suelo seco h}^{-1} = (M/P) * (1/\text{hora}) * f_1 * f_{d2}$$

M = mg L<sup>-1</sup> de p-nitrofenol en el extracto, según la recta de calibración. P = g de suelo.  $f_1 = 1 \mu\text{mol PNF} / 139 \mu\text{g PNF}$ .  $f_{d2}$  = factor de corrección para la humedad y obtener el valor en peso seco (0,934 en este caso).

Finalmente, se restó el valor obtenido de las muestras A al valor obtenido de las muestras B y así se obtuvo la actividad total.

### **Medida de la actividad de la enzima fosfatasa**

En este caso, el método a describir, se basó en la determinación colorimétrica del p-nitrofenol cuando el suelo se incubó durante una hora con una solución tamponada de p-nitrofenil fosfato.

A continuación se va a detallar el procedimiento llevado a cabo para la preparación de los reactivos:

-Solución stock (reactivo 1): Se mezclaron 12,2 g THAM (trishidroximetilaminometano) + 11,6 g ácido maleico + 14 g ácido cítrico + 6,28 g ácido bórico + 488 ml NaOH 1M (reactivo 5). Se disolvieron en agua desionizada y se enrasó a 1 litro.

-Tampón MUB, pH 6,5 (reactivo 2): Se tomaron 200 mL de solución stock (reactivo 1), y se llevó el volumen a casi un litro; se ajustó el pH a 6,5 (con HCl 1:1; reactivo 7) y se enrasó a 1 litro.

-Solución sustrato, p-nitrofenilfosfato 25 mM (reactivo 3): se disolvieron 0,377 g en 50 ml de tampón MUB (reactivo 2).

-CaCl<sub>2</sub> 0.5 M (reactivo 4): Este reactivo venía preparado.

-NaOH 1 M (reactivo 5): Se disolvieron 40 gramos de NaOH en 1 litro de agua desionizada.

-NaOH 0.5 M (reactivo 6): Se disolvieron 20 gramos de NaOH en 1 litro de agua desionizada.

-HCl 1:1 (reactivo 7): Se cogieron el mismo volumen de HCl puro (al 35%) y de agua desionizada y se mezclaron.

-Serie de patrones de 0, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 500 y 650 mg/L de p-nitrofenol. Para ello en primer lugar se preparó una disolución madre de 1000 mg/L y se fue diluyendo esta concentración.

Seguidamente se detallará el procedimiento del protocolo que se llevó a cabo:

Para cada una de las muestras se prepararon dos tubos, uno A al que se le añadió el sustrato antes de la incubación y un tubo B que sirvió de control ya que se le añadió el sustrato después de la incubación.

Para la preparación de las muestras A, se pesaron 0,5 g de suelo en tubos de 10 mL. Se añadieron 2 mL de disolución tampón MUB (reactivo 2) y 0,5 mL de la solución sustrato p-nitrofenilfosfato (reactivo 3). Se agitaron los tubos después de añadir cada reactivo y se

incubaron una hora en un baño a 37°C con los tubos destapados. Al sacar los tubos del baño se introdujeron 15 minutos en la nevera. Después se añadieron 0,5 mL de CaCl<sub>2</sub> (reactivo 4). Se añadieron 2 mL de NaOH 0,5 M (reactivo 6) y a continuación se añadieron 5 mL de agua desionizada. Después de añadir cada uno de los reactivos y el agua, se agitaron los tubos y después se centrifugaron en tandas de 12 tubos a 3500 rpm durante 5 minutos.

Para la preparación de las muestras B, se procedió de la misma forma, con la única diferencia que los 0,5 mL de la solución sustrato p-nitrofenilfosfato (reactivo 3) se añadió después de la incubación para que el p-nitrofenol no se liberase.

También se debe de tener en cuenta que con los patrones de 0, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 500 y 650 mg/L de p-nitrofenol se prepararon unos patrones a los que se les añadió 0,5 mL del patrón correspondiente, 2 mL del tampón MUB (reactivo 2), 0,5 mL de CaCl<sub>2</sub>, 2 mL de NaOH 0,5 M (reactivo 6) y los 5 mL de agua. Se agitaron después de echar cada uno de los reactivos y se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos aunque no se incubaron.

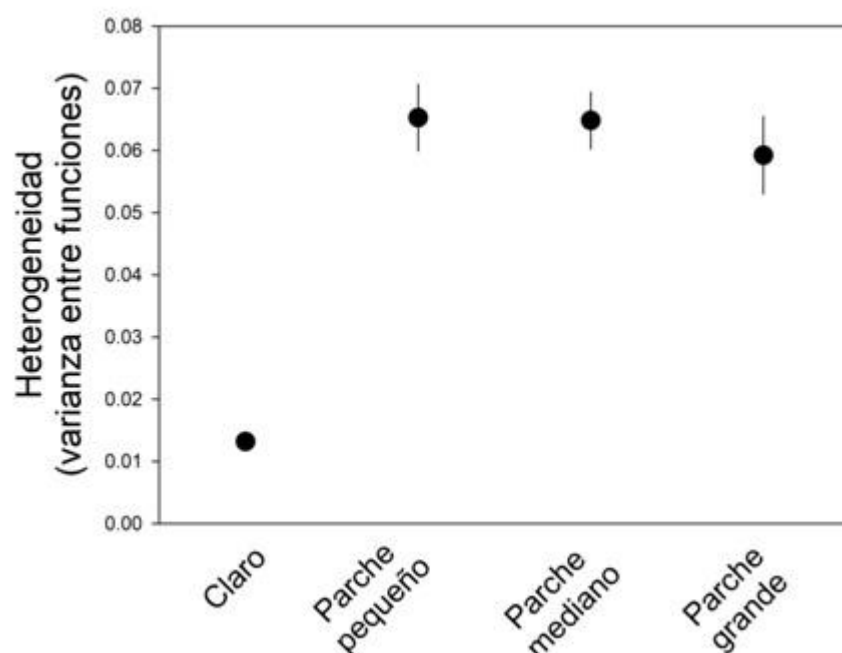
Después de la centrifugación se midieron las absorbancias tanto de las muestras A como de las B a 400 nm. Lo que el espectrofotómetro nos midió era el p-nitrofenol liberado. Para la obtención de los valores en  $\mu$ moles de p-nitrofenol g<sup>-1</sup> suelo seco h<sup>-1</sup> se hizo uso de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{moles de p-nitrofenol g}^{-1}\text{ suelo seco h}^{-1} = (M/P) \cdot (1/\text{hora}) \cdot f_1 \cdot f_2$$

M = mg L<sup>-1</sup> de p-nitrofenol en el extracto, según la recta de calibración. P = g de suelo.  $f_1 = 1 \mu\text{mol PNF} / 139 \mu\text{g PNF}$ .  $f_2$  = factor de corrección para la humedad y obtener el valor en peso seco (0,934 en este caso).

Finalmente, se restó el valor obtenido de las muestras A al valor obtenido de las muestras B y así se obtuvo la actividad total.

## Anexo 2



**Figura 7.** Representación de la heterogeneidad según si es claro o el parche tiene un tamaño pequeño, medio o grande.

Para la realización Para la realización de esta figura se calculó la varianza entre las distintas funciones, se separaron según su tamaño y si era el parche un claro o no y mediante el programa Sigmaplot se representaron.

Se puede apreciar como resultado que para los parches sin *Quercus ilex* su heterogeneidad es mucho menor, y que los valores más altos se encuentran en parches pequeños y medianos.